

Rec'd PCT/PTO 02 FEB 2005

10/523015

T/KR 03/01534

RO/KR 30. 07. 2003

REC'D 20 AUG 2003

WIPO PCT

대한민국 특허청
KOREAN INTELLECTUAL
PROPERTY OFFICE

별첨 사본은 아래 출원의 원본과 동일함을 증명함.

This is to certify that the following application annexed hereto
is a true copy from the records of the Korean Intellectual
Property Office.

출원번호 : 10-2002-0047189
Application Number

출원년월일 : 2002년 08월 09일
Date of Application AUG 09, 2002

출원인 : 한국화학연구원
Applicant(s) KOREA RESEARCH INSTITUTE OF CHEMICAL TECHNOLOGY

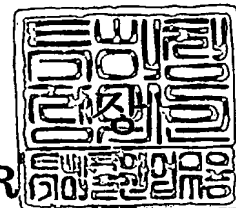
PRIORITY DOCUMENT
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH
RULE 17.1(a) OR (b)



2003 년 07 월 30 일

특 허 청

COMMISSIONER



【서지사항】

【서류명】	특허출원서
【권리구분】	특허
【수신처】	특허청장
【제출일자】	2002.08.09
【발명의 명칭】	이미다졸을 포함하는 이차아민으로 치환된 벤조피란 유도체 및 그의 제조방법
【발명의 영문명칭】	BENZOPYRAN DERIVATIVES SUBSTITUTED WITH SECONDARY AMINES INCLUDING IMIDAZOLE AND THEIR PREPARATION
【출원인】	
【명칭】	한국화학연구원
【출원인코드】	3-1998-007765-1
【대리인】	
【성명】	이원희
【대리인코드】	9-1998-000385-9
【포괄위임등록번호】	1999-011676-9
【발명자】	
【성명의 국문표기】	이규양
【성명의 영문표기】	YI, Kyu Yang
【주민등록번호】	590910-1029721
【우편번호】	305-755
【주소】	대전광역시 유성구 어은동 한빛아파트 130-1001
【국적】	KR
【발명자】	
【성명의 국문표기】	이선경
【성명의 영문표기】	LEE, Sun Kyung
【주민등록번호】	620422-2058311
【우편번호】	305-720
【주소】	대전광역시 유성구 신성동 대림두레아파트 108동1303호
【국적】	KR
【발명자】	
【성명의 국문표기】	유성은
【성명의 영문표기】	Y00, Sung-Eun
【주민등록번호】	500118-1069312

【우편번호】	314-911
【주소】	충청남도 공주시 장기면 금암리 314-16
【국적】	KR
【발명자】	
【성명의 국문표기】	서지희
【성명의 영문표기】	SUH,Jee Hee
【주민등록번호】	631119-2405816
【우편번호】	305-755
【주소】	대전광역시 유성구 어은동 한빛아파트 116동 802호
【국적】	KR
【발명자】	
【성명의 국문표기】	김낙정
【성명의 영문표기】	KIM,Nak Jeong
【주민등록번호】	641016-1386217
【우편번호】	305-345
【주소】	대전광역시 유성구 신성동 한울아파트 102-701
【국적】	KR
【발명자】	
【성명의 국문표기】	황선경
【성명의 영문표기】	HWANG,Sun Kyung
【주민등록번호】	730926-2901313
【우편번호】	302-748
【주소】	대전광역시 서구 월평동 하나로아파트 107동 1002호
【국적】	KR
【발명자】	
【성명의 국문표기】	김은숙
【성명의 영문표기】	KIM,Eun-sook
【주민등록번호】	770420-2056613
【우편번호】	135-946
【주소】	서울특별시 강남구 일원2동 한신아파트 104동 1308호
【국적】	KR

【발명자】

【성명의 국문표기】 이병호
 【성명의 영문표기】 LEE, Byung-Ho
 【주민등록번호】 630429-1716018
 【우편번호】 305-755
 【주소】 대전광역시 유성구 어은동 99 한빛아파트 116-804
 【국적】 KR

【발명자】

【성명의 국문표기】 서호원
 【성명의 영문표기】 SEO, Ho Won
 【주민등록번호】 651009-1449115
 【우편번호】 301-211
 【주소】 대전광역시 중구 산성동 78-5 한빛아파트 101-302
 【국적】 KR

【발명자】

【성명의 국문표기】 이정옥
 【성명의 영문표기】 LEE, Chong Ock
 【주민등록번호】 571222-2408124
 【우편번호】 305-340
 【주소】 대전광역시 유성구 도룡동 쌍용빌라 A동 201호
 【국적】 KR

【발명자】

【성명의 국문표기】 최상운
 【성명의 영문표기】 CHOI, Sang-Un
 【주민등록번호】 640329-1030415
 【우편번호】 305-345
 【주소】 대전광역시 유성구 신성동 한울아파트 106동 101호
 【국적】 KR

【심사청구】

청구

【취지】

특허법 제42조의 규정에 의한 출원, 특허법 제60조의 규정에 의한 출원심사를 청구합니다. 대리인
 이원희 (인)

【수수료】

【기본출원료】 20 면 29,000 원

【가산출원료】 60 면 60,000 원

【우선권주장료】 0 건 0 원

【심사청구료】 11 항 461,000 원

【합계】 550,000 원

【감면사유】 정부출연연구기관

【감면후 수수료】 275,000 원

【첨부서류】 1. 요약서·명세서(도면)_1통

【요약서】**【요약】**

본 발명은 이미다졸을 포함하는 이차아민으로 치환된 벤조피란 유도체, 그의 제조방법 및 그를 포함하는 약학적 조성물에 관한 것으로, 본 발명의 벤조피란 유도체는 신생혈관 억제 작용, 허혈 심장에 대한 보호작용, 신경세포 보호작용, 지질 과산화 저해작용의 항산화작용을 나타내어 항암제, 류마티스성 관절염 치료제, 당뇨병성 망막증 등의 치료제로 사용될 수 있으며, 심장보호제, 신경세포 보호제, 항산화제 등 산화적 스트레스와 허혈-재관류와 관련된 조직의 보호제 및 질환의 치료제로 사용될 수 있다.

【색인어】

이미다졸, 벤조피란, 신생혈관 억제, 항암제, 심장보호제.

【명세서】

【발명의 명칭】

이미다졸을 포함하는 이차아민으로 치환된 벤조피란 유도체 및 그의 제조방법{BENZOPYRAN DERIVATIVES SUBSTITUTED WITH SECONDARY AMINES INCLUDING IMIDAZOLE AND THEIR PREPARATION}

【발명의 상세한 설명】

【발명의 목적】

【발명이 속하는 기술분야 및 그 분야의 종래기술】

<1> 본 발명은 이미다졸을 포함하는 이차아민으로 치환된 벤조피란 유도체, 그의 제조방법 및 그를 포함하는 약학적 조성물에 관한 것으로, 본 발명의 벤조피란 유도체는 신생혈관 억제 작용, 허혈 심장에 대한 보호작용, 신경세포 보호작용, 지질 과산화 저해작용의 항산화작용을 나타내어 항암제, 류마티스성 관절염 치료제, 당뇨병성 망막증 등의 치료제로 사용될 수 있으며, 심장보호제, 신경세포 보호제, 항산화제 등 산화적 스트레스와 허혈-재관류와 관련된 조직의 보호제 및 질환의 치료제로 사용될 수 있다.

<2> 인체질환 중에서 암이 차지하는 비율은 점차로 증가하고 있는 추세로 국내외에서 항암제 개발에 대한 대규모 연구가 진행되고 있어 많은 약제들이 개발되고 있다. 그러나, 고형암에 대해서는 아직까지 탁월한 효과를 가지면서 부작용이 없는 항암제 개발은 미비한 상태인데, 1970년대 폴크만(Folkman)에 의하여 종양성장이 혈관형성에 의존한다는 가설이 나온 이후 혈관 형성억제에 의한 새로운 항암치료의 가능성이 제시되었다.

- <3> 지금까지 알려진 대부분의 항암제들은 핵산 합성을 저해함으로써 암세포의 성장을 억제하는 것에 초점이 맞추어져 종양세포 뿐만 아니라 정상세포까지도 상해하는 경우가 많으며, 개발된 수많은 항암제 유도체들도 이러한 작용을 조금씩 경감시키는 것에 불과하다. 따라서 새로 생성된 혈관을 통해 산소와 영양분을 공급받아 성장하고 전이하는 암세포의 특성을 고려하여, 암세포 주변의 산소와 영양분의 이동 통로가 되는 혈관신생(angiogenesis)을 억제시킴으로써 암세포의 무한한 증식과 전이를 차단, 암의 악성화를 막는 항암제의 개발 연구가 필요하다.
- <4> 정상조직에서는 조직이 성장하거나 상처의 치유시에 신생혈관이 형성되는데, 암조직에서는 신생혈관이 없다면 고형암이 1~2 mm 이상의 크기로 자랄 수 없기 때문에 종양의 성장에 혈관 신생이 필수적이다[Folkman, J. *et al.*, (1992) *J. Biol. Chem.* 267: 10931-10934]. 신생혈관 형성(angiogenesis)으로 알려진 미세한 혈관의 형성이 고형암 증식과 전이 활성의 핵심과정으로 인식되고 있다. 신생혈관 형성은 혈관신생 유도인자와 억제제의 균형에 의해 조절되는데 이러한 인자들이 불균형을 이룰 때 신생혈관이 다량 형성된다. 혈관형성은 다양한 생리적 현상들, 즉 배 발생 (embryonic development), 상처치유, 만성염증, 혈관종 (hemangiomas), 당뇨병성 망막증 (diabetic retinopathy), 류마티스성 관절염 (rheumatoid arthritis), 건선 (psoriasis), AIDS 합병증 및 악성종양의 성장, 전이 등과 밀접한 관련이 있다[Folkman, J., Klagsbrun, M. (1987)]

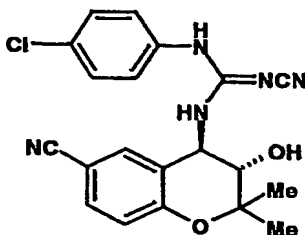
Science 235: 442-447]. 혈관형성은 혈관 내피세포의 이동과 증식, 혈관 세포로의 분화로 이어지는 일련의 작용들을 포함하며, 이러한 혈관 형성은 암의 성장과 전이에 있어 중요한 선행 과정으로 알려져 있다. 즉, 암의 진행성 성장은 숙주세포로부터의 혈관 형성을 필요로 하므로, 종양으로부터 유래한 혈관형성 촉진인자들이 혈관 내피세포를 자극하여 종양 덩어리로 새로운 혈관형성을 유발시킨다. 악성종양 주변에 많이 형성된 혈관들에 의해 암세포의 전이도 용이하게 일어난다. 따라서 이러한 신생혈관 형성의 억제는 암의 성장 및 전이의 억제를 유도할 수 있으며, 신생혈관 형성 유도인자를 발견하고 이의 작용 메커니즘을 밝히며 신생혈관 형성을 억제하는 인자들을 발견하는 것은 항암제 개발을 위한 중요한 연구로 주목받고 있다.

- ⑤ 암종양이 생성되고 신생혈관 형성을 유도한 후 최종적으로 전이가 되는 과정에서 신생혈관 형성 억제제 개발의 표적으로는 신생혈관 형성 유도인자의 생산을 억제, 신생혈관 형성 유도 인자가 수용체에 결합하는 것을 저해, 기저막이 가수분해되는 것을 저해, 내피세포의 이동을 저해, 내피세포의 증식을 저해, 모세관의 형성을 저해, 기저막의 합성을 저해 또는 전이를 억제하는 것이다. 이러한 관점에서 그동안 발견 및 개발된 신생혈관 형성 억제제는 프로스타민 (prostamine), 종양괴사인자 (tumor necrosis factor)와 같은 단백질들, 폴리사카라이드류, 항생제류, 스테로이드류, 폴리양이온 및 폴리음이온류, 암억제 유전자류 등으로 분류될 수 있다. 지혈성 스테로이드 (angiostatic steroids)인 하이드로코르티손 (hydrocortisone)의 경우는 헤파린 (heparin)과 함께 처리할 때 혈관형성 억제효과를 나타내는 것으로 알려져 있다[Lee, A. et al., (1983) *Science* 221: 1185-1187; Crum, R. et al., (1985) *Science* 230: 1375-1378]. 아직 암환자에 사용하도록 허용되어 상품화된 신생혈관 형성 억제제는 없지만 현재 임상실험에 들어가 있는 약물은 다수 있으며, Marimastat, BAY 1-9566, Prinomastat, Neovastat, SU 5416 이 phase III에 있고 Neovastat와 SU 5416는 긍정적인 임상결과가 발표되었다.

<6> 허혈성 심질환은 심근의 산소 요구량과 산소 공급량의 균형 상태가 깨져 공급량이 요구량에 비해 현저히 부족할 때 심근허혈 (myocardial ischemia)의 결과로 나타난다. 대부분의 경우 관상동맥질환이 허혈성 심질환을 일으키는 주원인인데, 관상동맥의 내경이 좁아지면 충분한 양의 혈액이 공급되지 못하므로 산소 요구량을 충족시키지 못해 협심증, 심근경색, 급성 심장마비, 부정맥 등을 초래하게 된다 [G.J. Grover, *Can. J. Physiol.* 75, 309(1997); G.D. Lopaschuk *et al.*, *Science & Medicine* 42 (1997)]. 또한 허혈성 심혈관 질환은 관상동맥질환 외에 다른 복합적인 요인에 의해서도 발병되므로, 관상동맥 성형술 등의 수술요법 뿐만 아니라 다른 약물 요법도 필요하다. 허혈성 심혈관 질환의 치료를 위해서는 항혈전제, 동맥경화 치료제 등의 약물이 사용되며, 대표적인 약물로는 베타 차단제, 질산염 (nitrate), 니페디핀 등의 칼슘길항제, 혈전용해제, 아스피린, ACE (angiotensinogen converting enzyme) 저해제 등이 사용되고 있다.

<7> 한편 아트왈 등에 의해 하기 구조식을 갖는 벤조피라닐 아닐리노 메틸 이미다졸 (BMS-180448)이 기존의 칼륨통로 개방제와는 달리 심장에 존재하는 K_{ATP} (ATP-sensitive potassium channel)에 선택적으로 작용하는 것이 보고된 바 있다 [K.S. Atwal *et al.*, *J. Med. Chem.*]. 이 화합물은 혈관을 이완시키는 효과가 비교적 작아서 혈압을 감소시키지 않으면서도 허혈 심장을 보호하므로, 새로운 허혈심장질환 치료제로서의 개발 가능성을 제시하였다.

<8>



<9> 신경세포의 손상 또는 사멸은 뇌졸중, 뇌외상, 알츠하이머 병, 파킨슨 병, 신생아 저산소증, 녹내장, 당뇨병성 신경증에 이르는 여러 가지 신경계 질환의 주원인으로 알려져 있다 [G.J. Zoppo *et al.*, *Drugs* 54, 9 (1997); I. Sziraki *et al.*, *Neurosci.* 85, 1101 (1998)]. 신경세포를 손상시키는 대표적인 요인으로서는 신경세포 내 철 농도의 증가, 활성산소의 증가, 산화물질의 증가 등을 꼽을 수 있다 [M.P. Mattson *et al.*, *Methods Cell Biol.* 46, 187 (1995); Y. Goodman *et al.*, *Brain Res.* 706, 328 (1996)].

<10> 이에 본 발명자들은 상기와 같은 약리 효과를 나타내는 화합물을 개발하기 위해 노력하던 중, 본 발명의 이미다졸을 포함하는 이차아민으로 치환된 벤조피란 유도체를 제조하였으며, 이들의 유도체가 신생혈관 형성 억제작용이 우수하며, 또한 허혈 심장에 대한 심장보호 작용, 신경세포 보호 작용, 지질 과산화 억제 작용의 항산화작용 등의 다양한 약리효과를 나타내므로, 암, 류마티스성 관절염, 당뇨병 망막증 등의 신생혈관 형성에 관련된 질환, 신생아 저산소증, 녹내장, 당뇨병성 신경증, 뇌외상과 같은 신경세포의 손상과 관련된 질환, 퇴행성 신경질환 및 동맥경화 등 산소 라디칼과 관련된 질환, 심근경색, 협심증, 심부전증 등 심혈관계 질환의 치료제로 사용될 수 있다는 것을 밝힘으로써 본 발명을 완성하였다.

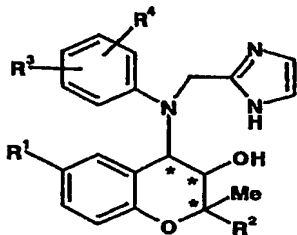
【발명이 이루고자 하는 기술적 과제】

- <11> 본 발명의 목적은 새로운 이미다졸을 포함하는 이차아민으로 치환된 벤조피란 유도체 및 약학적으로 허용되는 그의 염, 그의 제조방법 그리고 그를 유효성분으로 하는 약학적 조성물을 제공하는 것이다.

【발명의 구성 및 작용】

- <12> 상기 목적을 달성하기 위해서, 새로운 이미다졸을 포함하는 이차아민으로 치환된 벤조피란 유도체 및 약학적으로 허용되는 그의 염, 그의 제조방법 그리고 그를 유효성분으로 하는 약학적 조성물을 제공한다.
- <13> 이하 본 발명을 더욱 상세히 설명한다.
- <14> 본 발명은 하기 화학식 1로 표시되는 이미다졸을 포함하는 이차아민으로 치환된 벤조피란 유도체 및 약학적으로 허용가능한 그의 염을 포함한다.

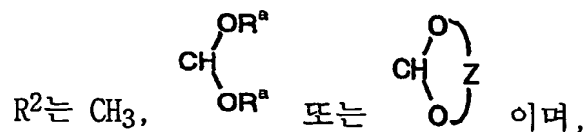
<15> 【화학식 1】



- <16> (상기 식에서,

- <17> R¹은 H, CN, NO₂ 또는 NH₂ 이며,

<18>



<19>

이때, R^a 는 $\text{C}_1 \sim \text{C}_4$ 의 직쇄 또는 측쇄 알킬이고,

<20>

Z 는 $\text{C}_2 \sim \text{C}_6$ 의 직쇄 또는 측쇄 일킬이고;

<21>

R^3 및 R^4 는 각각 독립적으로, H, Cl, Br, F, $\text{C}_1 \sim \text{C}_3$ 의 알킬기, OR^b , CF_3 , OCF_3 , NO_2 또는 CO_2R^b 이며,

<22>

이때, R^b 는 H 또는 $\text{C}_1 \sim \text{C}_3$ 의 알킬이고,

<23>

*는 카이랄(chiral) 탄소를 나타낸다.)

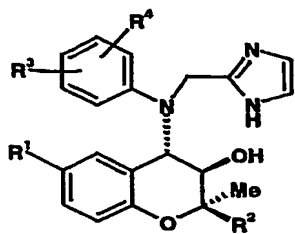
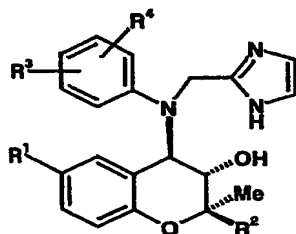
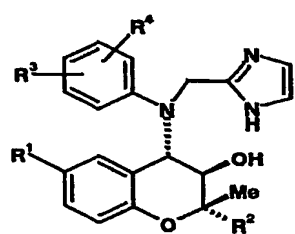
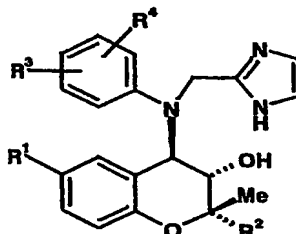
<24>

또한, 본 발명은 상기 화학식 1로 표시되는 벤조피란 유도체, 약학적으로 허용되는 그의 염뿐만 아니라 그로부터 제조될 수 있는 가능한 용매화물 및 수화물을 모두 포함한다.

<25>

본 발명의 상기 화학식 1로 표시되는 벤조피란 유도체는 라세미 혼합물 뿐만 아니라 2, 3, 4번 위치중 하나 이상이 키랄(chiral) 탄소인 모든 부분 입체이성질체를 포함한다. 상기 화학식 1에서 2, 3, 4번 위치 모두가 키랄탄소인 경우, 본 발명에 의한 3,4-다이하이드로 벤조피란 형태의 화합물은 하기 화학식 2로 표시되는 (I_1), (I_2), (I_3), 및 (I_4)와 같은 부분 입체이성질체로 존재한다.

<26> 【화학식 2】

(I₁)(I₂)(I₃)(I₄)

<27> (상기 식에서, R¹, R², R³ 및 R⁴는 상기 화학식 1에서 정의한 바와 같다.)

<28> 상기 화학식 1의 화합물들 중 바람직한 화합물은 구체적으로 하기와 같다.

<29> 1)(2S,3S,4R)-6-니트로-4-[N-(4-클로로페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)아미노]-3-하이드록시-2-메틸-2-다이메톡시메틸-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란

<30> 2)(2S,3R,4S)-6-니트로-4-[N-(4-클로로페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)아미노]-3-하이드록시-2-메틸-2-다이메톡시메틸-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란

<31> 3)(2R,3R,4S)-6-니트로-4-[N-(4-클로로페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)아미노]-3-하이드록시-2-메틸-2-다이메톡시메틸-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란

<32> 4)(2R,3S,4R)-6-니트로-4-[N-(4-클로로페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)아미노]-3-하이드록시-2-메틸-2-다이메톡시메틸-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란

- <33> 5)(2S,3S,4R)-6-니트로-4-[N-(4-트라이플루오로메틸페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)아미노]-3-하이드록시-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란
- <34> 6)(2S,3S,4R)-6-니트로-4-[N-(4-메톡시페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)아미노]-3-하이드록시-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란
- <35> 7)(2S,3S,4R)-6-니트로-4-[N-(4-트라이플루오로메톡시페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)아미노]-3-하이드록시-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란
- <36> 8)(2S,3S,4R)-6-니트로-4-[N-(4-브로모페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)아미노]-3-하이드록시-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란
- <37> 9)(2S,3S,4R)-6-니트로-4-[N-(2,4-다이에틸페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)아미노]-3-하이드록시-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란
- <38> 10)(2S,3S,4R)-6-니트로-4-[N-(2-아이소프로필페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)아미노]-3-하이드록시-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란
- <39> 11)(2S,3S,4R)-6-니트로-4-[N-(2,3-다이에틸페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)아미노]-3-하이드록시-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란
- <40> 12)(2R,3R,4S)-6-니트로-4-[N-(2,3-다이에틸페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)아미노]-3-하이드록시-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란
- <41> 13)(2R,3R,4S)-6-니트로-4-[N-(4-브로모페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)아미노]-3-하이드록시-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란
- <42> 14)(2R,3R,4S)-6-니트로-4-[N-(4-메톡시페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)아미노]-3-하이드록시-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란

- <43> 15)(2S,3S,4R)-6-니트로-4-[N-(4-플루오로페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)아미노]-3-하이드록시-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란
- <44> 16)(2S,3S,4R)-6-니트로-4-[N-(2-메톡시페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)아미노]-3-하이드록시-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란
- <45> 17)(2R,3R,4S)-6-니트로-4-[N-(2-아이소프로필페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)아미노]-3-하이드록시-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란
- <46> 18)(2R,3R,4S)-6-니트로-4-[N-(2-메톡시페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)아미노]-3-하이드록시-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란
- <47> 19)(2R,3R,4S)-6-니트로-4-[N-(3-클로로페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)아미노]-3-하이드록시-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란
- <48> 20)(2S,3S,4R)-6-니트로-4-[N-(3-클로로페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)아미노]-3-하이드록시-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란
- <49> 21)(2R,3R,4S)-6-니트로-4-[N-(4-트라이플루오로메톡시페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)아미노]-3-하이드록시-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란
- <50> 22)(2S,3S,4R)-6-사이아노-4-[N-(4-클로로페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)아미노]-3-하이드록시-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란
- <51> 23)(2R,3R,4S)-6-아미노-4-[N-(4-클로로페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)아미노]-3-하이드록시-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란
- <52> 24)(2S,3S,4R)-6-아미노-4-[N-(4-클로로페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)아미노]-3-하이드록시-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란

- <53> 25)(2S,3S,4R)-6-아미노-4-[N-(4-트라이플루오로메틸페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)아미노]-3-하이드록시-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란
- <54> 26)(2R,3R,4S)-6-아미노-4-[N-(4-트라이플루오로메톡시페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)아미노]-3-하이드록시-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란
- <55> 27)(2R,3R,4S)-6-아미노-4-[N-(2,3-다이에틸페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)아미노]-3-하이드록시-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란
- <56> 28)(2R,3R,4S)-6-아미노-4-[N-(4-메톡시페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)아미노]-3-하이드록시-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란
- <57> 29)(2R,3R,4S)-6-아미노-4-[N-(4-브로모페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)아미노]-3-하이드록시-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란
- <58> 30)(2S,3S,4R)-6-아미노-4-[N-(2,3-다이에틸페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)아미노]-3-하이드록시-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란
- <59> 31)(2S,3S,4R)-6-아미노-4-[N-(2-메톡시페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)아미노]-3-하이드록시-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란
- <60> 32)(2S,3S,4R)-6-아미노-4-[N-(4-메톡시페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)아미노]-3-하이드록시-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란
- <61> 33)(2S,3S,4R)-6-아미노-4-[N-(2,4-다이에틸페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)아미노]-3-하이드록시-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란
- <62> 34)(2S,3S,4R)-6-아미노-4-[N-(2-아이소프로필페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)아미노]-3-하이드록시-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란

- <63> 35) (2S,3S,4R)-6-아미노-4-[N-(4-트라이플루오로메톡시페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)아미노]-3-하이드록시-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란
- <64> 36) (2S,3S,4R)-6-아미노-4-[N-(4-브로모페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)아미노]-3-하이드록시-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란
- <65> 37) (2S,3S,4R)-6-아미노-4-[N-(4-플루오로페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)아미노]-3-하이드록시-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란.

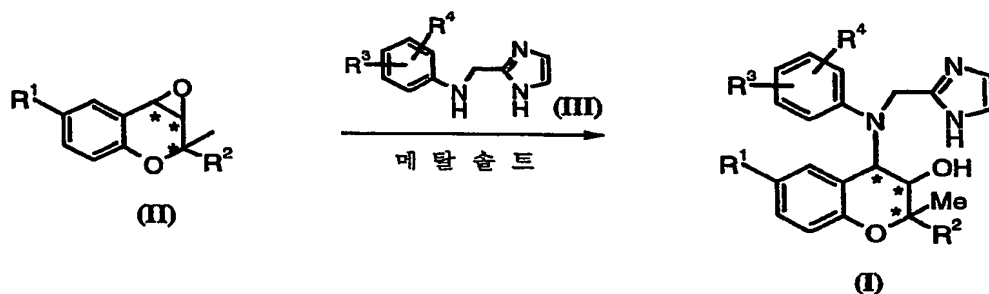
<66> 본 발명식 화학식 1의 화합물은 약학적으로 허용가능한 염의 형태로 사용할 수 있으며, 염으로는 약학적으로 허용가능한 유리산 (free acid)에 의해 형성된 산 부가염이 유용하다. 유리산으로는 유기산과 무기산을 사용할 수 있으며, 무기산으로는 염산, 브롬산, 황산, 아황산, 인산 등을 사용할 수 있고, 유기산으로는 구연산, 초산, 말레인산, 후마린산, 글루콘산, 메탄술폰산, 아세트산, 글리콜산, 숙신산, 타르타르산, 4-톨루엔술폰산, 갈락투론산, 엠본산, 글루탐산, 시트르산, 아스파르탄산 등을 사용할 수 있다.

<67> 본 발명에 따른 부가염은 통상의 방법, 예를 들면 화학식 1의 화합물을 과량의 산 수용액 중에 용해시키고, 이 염을 수혼화성 유기용매, 예를 들면 메탄올, 에탄올, 아세톤 또는 아세토니트릴을 사용하여 침전시켜서 제조할 수 있다. 동량의 화학식 1의 화합물 및 물 또는 알코올 (예, 글리콜 모노메틸에테르)중의 산을 가열하고, 이어서 이 혼합물을 증발시켜서 건조시키거나 또는 석출된 염을 흡인 여과시켜 제조할 수도 있다.

<68> 또한, 본 발명은 상기 화학식 1의 이미다졸을 포함하는 이차아민으로 치환된 벤조피란 화합물의 제조방법을 포함한다.

<69> 구체적으로 본 발명은 하기 반응식 1로 표시되는 바와 같이, 화학식 II의 화합물을 메탈 솔트(metal salt) 존재하에 화학식 III의 화합물과 반응시켜 화학식 I의 벤조피란 화합물의 제조방법을 포함한다.

<70> 【반응식 1】



<71> (상기 식에서, R¹, R², R³, R⁴ 및 *는 화학식 1에서 정의한 바와 같다.)

<72> 본 발명에서는 출발물질로서 각각의 부분 입체이성질체를 사용함으로써 화학식 1의 화합물을 각각의 부분 입체이성질체로서 제조할 수 있다. 또한 출발물질로 부분 입체이성질체의 혼합물을 사용함으로써 화학식 1의 화합물을 부분 입체이성질체의 혼합물로 제조하고 혼합물을 분리하여 각각의 부분 입체이성질체를 얻을 수 있다. 부분 입체이성질체의 분리는 통상적인 칼럼 크로마토그래피 또는 재결정 방법을 실시하여 분리할 수 있다.

<73> 이하 본 발명에 의한 화학식 1의 벤조피라닐 구아니딘 유도체의 제조방법을 보다 상세히 설명한다.

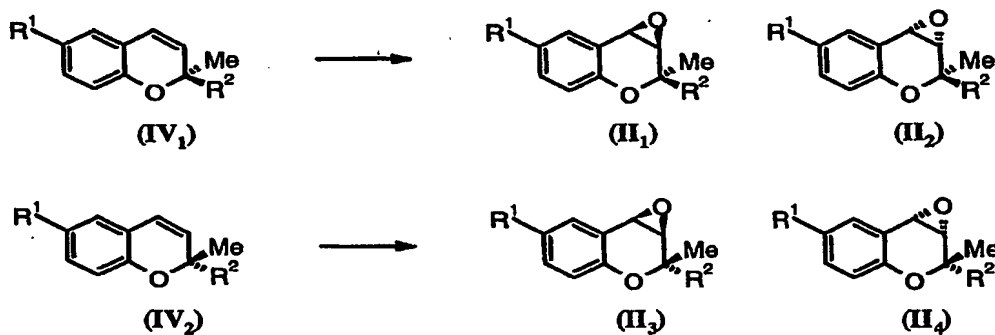
<74> I. 출발물질의 제조

<75> (1) 에폭사이드 화합물 (II)의 제조

<76> 상기 반응식 1에서 출발물질로 사용한 에폭사이드 화합물 (II)는 본 발명자들에 의한 대한민국 특허 출원번호 제2000-60467호에 기술되어 있는 방법에 의해 제조할 수 있다.

<77> 상기 문헌의 방법에 따라 화합물 (II)의 가능한 부분 입체이성질체 (II₁), (II₂), (II₃) 및 (II₄)를 올레핀 화합물 (IV₁) 및 (IV₂)로부터 각각 제조할 수 있다.

<78> 【반응식 2】

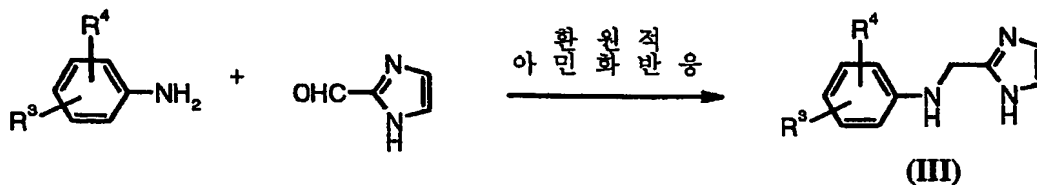


<79> (상기 식에서, R¹ 및 R²는 화학식 1에서 정의한 바와 같다.)

<80> (2) 이미다졸 헤테로고리를 포함하는 이차아민 화합물 (III)의 제조

<81> 상기 반응식 1에서 사용한 이미다졸 헤테로고리를 포함하는 이차아민 화합물은 하기 반응식 3과 같이 아닐린 화합물과 2-이미다졸카복스알데하이드를 사용하여 환원적 아민화반응 (reductive amination)에 의해 제조할 수 있다.

<82> 【반응식 3】



<83> (상기 식에서, R³ 및 R⁴는 화학식 1에서 정의한 바와 같다.)

<84> 상기 반응에서 환원적 아민화반응시 사용되는 환원제로는 소듐보로하이드라이드 (NaBH_4) 또는 소듐사이아노보로하이드라이드 (NaBH_3CN) 등이 사용될 수 있고, 용매는 메탄올 또는 에탄올과 같은 알코올계 용매, 또는 에틸 아세테이트가 사용되고 반응온도는 상온에서 용매의 비등점까지이다.

<85> II. 제조방법

<86> 상기 반응식 1로 표시되는 화학식 1의 화합물 제조방법은 적절한 용매에서 에폭사이드 화합물 (II)와 이차아민 화합물 (III)을 적절한 메탈솔트 존재하에 반응시키는 것으로 이루어진다.

<87> 이때, 사용되는 메탈솔트로 $\text{Mg}(\text{ClO}_4)_2$, CoCl_2 , LiClO_4 , NaClO_4 , CaCl_2 , ZnCl_2 , LiBF_4 및 $\text{Zn}(\text{Tf})_2$ 등을 사용할 수 있으며, 용매로는 아세토나이트릴, 테트라하이드로퓨란, 다이메틸폼아마이드 등을 사용할 수 있으며 아세토나이트릴을 사용하는 것이 바람직하다. 반응온도는 실온에서 용매의 비등점까지이다.

<88> 상기 반응에서 에폭사이드 화합물 (II)의 입체이성질체를 각각 개별적으로 출발물질로서 사용한 경우에는, 출발물질로 사용한 화합물에 대응되는 입체화학을 갖는 부분 입체이성질체를 개별적으로 얻을 수 있다. 즉, 에폭사이드 화합물 (II_1), (II_2), (II_3) 및 (II_4)로부터 각각 화합물 (I_1), (I_2), (I_3), 및 (I_4)을 얻을 수 있다.

<89> 화학식 1의 화합물 중 R^1 이 NH_2 인 화합물은 하기 반응식 4와 같이 R^1 이 NO_2 인 화합물을 환원시킴으로써 제조할 수 있다.

<90> 【반응식 4】



<91> (상기 식에서, R^2 , R^3 , R^4 및 *는 화학식 1에서 정의한 바와 같다.)

<92> 상기 환원반응은 적절한 용매에서 백금, 팔라듐 부착 목탄 (Pd/C; palladium on carbon) 또는 라니-니켈 등과 같은 금속 촉매와 수소가스를 이용하여 수소화 반응을 통해 시킬 수 있다. 반응 용매는 메탄올 또는 에탄올 등의 알코올계 용매나 에틸 아세테이트를 사용할 수 있다.

<93> 또 다른 방법으로는 CuSO_4 , $\text{Cu}(\text{OAc})_2$, CoCl_2 , SnCl_2 , 또는 NiCl_2 등의 존재 하에 NaBH_4 등의 환원제로 환원시킬 수도 있다. 이 때 용매로는 물과 메탄올의 혼합용매를 사용하는 것이 바람직하고 반응온도는 상온으로 하는 것이 바람직하다.

<94> 또한 본 발명은 상기 화학식 1로 표시되는 벤조피란 유도체 및 약학적으로 허용되는 그의 염을 유효성분으로 하는 신생혈관 형성 억제용, 신경세포 보호용, 뇌손상 보호용, 심장 보호용 또는 항산화용 약학적 조성물을 포함한다.

<95> 본 발명의 유도체 및 그의 염은 신생혈관 형성을 억제하는 작용을 나타낸다. 구체적으로 bFGF(basic Fibroblast Growth Factor)로 유도한 혈관 내피세포인 HUVEC(Human Umbilical Vein Endothelial Cell)의 관형성을 억제하였으며, in vivo 마우스 매트릭셀 실험(피하주사 및

경구투여) 및 CAM(chrioallatonic membrane) assay에서 신생혈관 형성을 억제하였다. 또한 누드마우스에서 사람의 폐암 조직으로부터 분리한 human non small cell lung cancer 인 A549의 이식실험 결과 종양성장을 유의성 있게 억제하였으며 체중감소 등의 부작용을 나타내지 않았고 100%의 생존율을 보여 기존의 항암제보다 현저하게 독성이 경감되었다. 본 발명의 화합물들은 신생혈관 억제효과에 의해 기존의 항암제보다 독성 및 부작용이 적으면서 항암효과를 나타내었으므로 항암제로서 사용될 수 있으며 류마티스성 관절염 치료제, 당뇨병성 망막증 치료제로도 응용될 수 있다.

<96> 본 발명의 화합물들은 신경세포를 보호하는 작용을 나타낸다. 구체적으로 철에 의해 일어나는 산화적 스트레스에 의한 신경세포의 손상에 대한 보호효과가 있었고, 과산화수소에 의해 유발된 신경독성에 대하여서도 신경세포의 보호효과를 나타내었다. 따라서 본 발명의 화합물들은 신생아 저산소증, 녹내장, 당뇨병성 신경증, 뇌외상과 같은 신경세포의 손상과 관련된 질환에 사용될 수 있다.

<97> 또한 본 발명의 화합물들은 철 및 구리에 의한 지질 과산화를 억제하며, 과산화수소에 의해 유발된 A7r5 세포 내 활성산소를 저해하였다. 따라서 본 발명의 화합물들은 지질 과산화와 세포내의 산화물질 축적에 의해 유발되는 노화, 치매 등과 같은 퇴행성 신경질환에 유용하게 사용될 수 있다.

<98> 흰쥐의 적출 심장을 이용한 랑겐돌프의 허혈심장 모델에서 본 발명의 화합물들은 심장 보호의 지표가 되는 수축 유발시간 (TTC, time to contracture)을 유의성있게 연기시키고, 재관류후 심장 기능 (좌심실 발생압 x 심박동수, LVDP x HR)의 회복을 증진시켰으며, 세포 손상의 지표가 되는 젖산염 탈수소효소 (LDH, Lactate dehydrogenase)의 유리를 감소시켜 대조약물인 BMS-180448과 유사한 심장보호작용을 나타냈다. 심장보호제로 사용시 부작용이 될 수 있는

혈관이완작용도 BMS-180448 이나 BMS-191095 보다 약하여 보다 우수한 심장선택성을 나타내었다. 또한 마취된 흰쥐를 이용한 허혈심근 모델에서 본 발명의 화합물들은, BMS-180448과 유사한 항허혈 작용을 나타냈다. 이와 같이 본 발명의 화합물들은 in vitro 및 in vivo에서 우수한 항허혈 작용을 나타내므로, 심근경색, 심부전증, 협심증의 예방 및 치료를 위한 심장보호제로서 사용될 수 있다.

<99> 본 발명의 화합물은 임상 투여시에 경구 및 비경구의 여러 가지 제형으로 투여될 수 있는데, 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충전제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 제조된다. 경구투여를 위한 고형 제제에는 정제, 환자, 산제, 과립제, 캡슐제, 트로키제 등이 포함되며, 이러한 고형 제제는 하나 이상의 본 발명의 화합물에 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 탄산칼슘, 수크로스(sucrose) 또는 락토오스(lactose) 또는 젤라틴 등을 섞어 조제된다. 또한, 단순한 부형제 외에 마그네슘 스티레이트 탈크 같은 윤활제들도 사용된다. 경구 투여를 위한 액상 제제로는 현탁제, 내용액제, 유제 또는 시럽제 등이 해당되는데, 흔히 사용되는 단순 희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다. 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁용제, 유제, 동결건조제, 좌제가 포함된다. 비수성용제, 현탁용제로는 프로필렌글리콜, 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위텟솔(witepsol), 마크로골, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세롤, 젤라틴 등이 사용될 수 있다.

100> 또한, 본 발명의 화합물의 인체에 대한 투여량은 환자의 나이, 몸무게, 성별, 투여형태, 건강상태 및 질환 정도에 따라 달라질 수 있으며, 몸무게가 70 kg인 성인 환자를 기준으로 할 때, 일반적으로 0.1~1000 mg/일이며, 바람직하게는 1~500 mg/일이며, 또한 의사 또는 약사의 판단에 따라 일정 시간 간격으로 1일 1회 내지 수회로 분할 투여할 수도 있다.

101> 이하 본 발명을 실시예에 의하여 더욱 상세하게 설명한다.

102> 단, 하기 실시예들은 본 발명을 예시하는 것으로 본 발명의 내용이 실시예에 의해 한정되는 것은 아니다.

103> 본 발명에서는 적외선 분광법, 핵자기 공명 스펙트럼, 질량 분광법, 액체크로마토그래피법, X-선 구조결정법, 선광도 측정법과 대표적인 화합물의 원소 분석 계산치와 실측치의 비교에 의해 분자 구조를 확인하였다.

104> <제조예> 이미다졸 헥테로고리를 포함하는 아차아민의 제조

105> (4-클로로페닐)(1H-이미다졸-2-일메틸)아민

106> 2-이미다졸카복스알데히드 (2-imidazolecarboxaldehyde) 570 mg (5.9 mmol)과 4-클로로아닐린 756 mg (5.9 mmol)을 메탄올 5 mL에 녹인 후, 60 °C에서 4시간동안 교반시켰다. 반응 온도를 실온으로 내린 후, NaBH₄ 337 mg (8.9 mmol)을 가하고 1시간동안 교반시켰다. 물 20 mL를 가한 후, 에틸아세테이트 (50 mL)로 추출하였다. 유기층을 무수 MgSO₄로 건조시키고 감압농축한 후 잔류물을 컬럼 크로마토그래피 (5% 메탄올/클로로폼)하여 목적화합물 660 mg (수율 53%)을 얻었다.

107> ¹H NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 4.27(s, 3H), 5.40(br s, 1H), 6.54(m, 2H), 6.97(m, 4H)

<108> (3-클로로페닐)(1H-이미다졸-2-일메틸)아민

<109> ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 4.30(s, 3H), 6.33-6.47(m, H), 6.63-6.68(m, 1H), 6.98(m, 3H)

<110> (4-메톡시페닐)(1H-이미다졸-2-일메틸)아민

<111> ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 3.76(s, 3H), 4.36(s, 2H), 6.66-6.68(m, 4H), 6.98(s, 2H)

<112> (2-메톡시페닐)(1H-이미다졸-2-일메틸)아민

<113> ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 3.84(s, 3H), 4.47(d, 2H, $J=4.6$ Hz), 4.81(br s, 1H), 6.52(dd, 1H, $J=8, 1.6$ Hz), 6.67-6.86(m, 3H), 6.98(s, 2H)

<114> (4-트라이플루오로메톡시페닐)(1H-이미다졸-2-일메틸)아민

<115> ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 4.36(s, 2H), 6.50(dd, 2H, $J=6.8, 2.2$ Hz), 6.96-7.26(m, 4H)

<116> (2-트라이플루오로메톡시페닐)(1H-이미다졸-2-일메틸)아민

<117> ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 4.47(d, 2H, $J=5.6$ Hz), 4.72(br s, 1H), 6.61-6.75(m, 2H), 7.00(s, 2H), 7.02-7.17(m, 2H)

118> (4-트라이플루오로메틸)(1H-이미다졸-2-일메틸)아민

119> ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 4.31(d, 2H, $J=5.2$ Hz), 6.36(br s, 1H), 6.68(d, 2H, $J=8.8$ Hz), 6.87(s, 2H), 7.26(d, 2H, $J=8.6$ Hz)

120> (2-트라이플루오로메틸)(1H-이미다졸-2-일메틸)아민

121> ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 4.39(d, 2H, $J=5.4$ Hz), 5.92(br s, 1H), 6.68-7.00(m, 4H), 7.35-7.45(m, 2H)

122> (4-메틸페닐)(1H-이미다졸-2-일메틸)아민

123> ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 2.18(s, 3H), 4.30(s, 2H), 6.56(d, 2H, $J=8.4$ Hz), 6.88-6.96(m, 4H)

124> (4-플루오로페닐)(1H-이미다졸-2-일메틸)아민

125> ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 4.31(s, 2H), 6.45-6.61(m, 2H), 6.71-6.95(m, 4H)

126> (4-브로모)(1H-이미다졸-2-일메틸)아민

127> ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 4.26(s, 2H), 6.52(br s, 1H), 6.53-6.58(m, 2H), 6.87-6.89(m, 2H), 7.10-7.16(m, 2H)

128> (2-아이소프로필페닐)(1H-이미다졸-2-일메틸)아민

129> ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 1.23-1.27(m, 6H), 4.36(br s, 1H), 4.47(s, 2H),
6.54-6.59(m, 1H), 6.76-6.84(m, 1H), 6.99-7.28(m, 4H)

130> (2,6-다이메틸페닐)(1H-이미다졸-2-일메틸)아민

131> ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 2.18(s, 6H), 4.19(s, 2H), 6.82-6.99(m, 5H)

132> (2,3-다이메틸페닐)(1H-이미다졸-2-일메틸)아민

133> ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 2.07(s, 3H), 2.24(s, 3H), 4.38(s, 2H), 4.56(br s, 1H),
6.46-6.56(m, 2H), 6.87-6.95(m, 3H)

134> (2,4,6-트라이메틸페닐)(1H-이미다졸-2-일메틸)아민

135> ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 2.16-2.27(m, 9H), 4.19(s, 2H), 6.82(s, 2H), 7.00(s, 2H)

136> (4-에톡시카보닐페닐)(1H-이미다졸-2-일메틸)아민

137> ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 1.28(t, 3H), 4.20(q, 2H), 4.33(d, 2H, $J=5.2$ Hz),
6.54-6.63(m, 2H), 6.88(s, 2H), 7.68(d, 2H, $J=8.6$ Hz)

138> (1H-이미다졸-2-일메틸)벤질아민

139> ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 3.71-3.83(m, 4H), 6.90-6.97(m, 2H), 7.03-7.24(m, 5H).

- <140> <실시예 1> (2S,3S,4R)-6-니트로-4-[N-(4-클로로페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)아미노]-3-하이드록시-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란의 제조
- <141> 에폭사이드 화합물 (2S,3S,4S)-6-니트로-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-에폭시-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란 437 mg (1.55 mmol)과 (4-클로로페닐)(1H-이미다졸-2-일메틸)아민 323 mg (1.55 mmol)을 아세트나이트릴 2 mL에 녹이고 무수 코발트클로라이드 (CoCl_2) 202 mg (1.55 mmol)을 가하였다. 60 °C에서 10시간동안 반응시킨 후, 포화 NaHCO_3 수용액 5 mL를 가하고 에틸 아세테이트 (30 mL)로 추출하였다. 유기층을 소금물로 세척하고 무수 Na_2SO_4 로 건조시킨 후 감압농축하였다. 잔류물을 실리카겔 컬럼 크로마토그래피 (헥산:에틸 아세테이트 = 2:1)로 정제하여 목적화합물 304 mg (수율 40%)을 얻었다.
- <142> ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 1.49(s, 3H), 3.60(s, 3H), 3.63(s, 3H), 4.32(m, 1H), 4.57(s, 1H), 5.14(br s, 1H), 6.75(br s, 2H), 6.97(m, 4H), 7.27(m, 2H), 7.93(s, 1H), 8.08(d, 1H)
- <143> <실시예 2> (2S,3R,4S)-6-니트로-4-[N-(4-클로로페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)아미노]-3-하이드록시-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란의 제조
- <144> 에폭사이드 화합물 (2S, 3R, 4R)-6-니트로-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-에폭시-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란 129 mg (0.46 mmol)과 (4-클로로페닐)(1H-이미다졸-2-일메틸)아민 95 mg (0.46 mmol)을 사용하여 상기 실시예 1과 같은 방법으로 반응하여 목적화합물 76 mg (수율 34%)을 얻었다.

<145> ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 1.66(s, 3H), 3.60(s, 3H), 3.69(s, 3H), 3.87(br s, 1H), 4.13(m, 1H), 4.29(d, 1H), 4.43(d, 1H), 4.64(s, 1H), 5.64(d, 1H), 6.83(d, 2H), 6.95(m, 4H), 7.15(d, 2H), 7.86(s, 1H), 8.06(m, 2H), 8.41(s, 1H)

<146> <실시예 3> (2R, 3R, 4S)-6-니트로-4-[N-(4-클로로페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)아미노]-3-하이드록시-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란의 제조

<147> 에폭사이드 화합물 (2R, 3R, 4R)-6-니트로-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-에폭시-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란 1.038 g (3.7 mmol)과 (4-클로로페닐)(1H-이미다졸-2-일메틸)아민 766 mg (3.7 mmol)을 사용하여 상기 실시예 1과 같은 방법으로 반응하여 목적화합물 2.13 g (수율 64%)을 얻었다.

<148> ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 1.49(s, 3H), 3.60(s, 3H), 4.32(m, 1H), 4.57(s, 1H), 5.14(br s, 1H), 6.75(br s, 2H), 6.97(m, 4H), 7.27(m, 2H), 7.93(s, 1H), 8.08(d, 1H).

<149> <실시예 4> (2R, 3S, 4R)-6-니트로-4-[N-(4-클로로페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)아미노]-3-하이드록시-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란의 제조

<150> 에폭사이드 화합물 (2R, 3S, 4S)-6-니트로-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-에폭시-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란 250 mg (0.88 mmol)과 (4-클로로페닐)(1H-이미다졸-2-일메틸)아민 183 mg (0.88 mmol)을 사용하여 상기 실시예 1과 같은 방법으로 반응하여 목적화합물 269 mg (수율 63%)을 얻었다.

- 151> ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 1.66(s, 3H), 3.60(s, 3H), 3.69(s, 3H), 3.87(br s, 1H), 4.13(m, 1H), 4.29(d, 1H), 4.43(d, 1H), 4.64(s, 1H), 5.64(d, 1H), 6.83(d, 2H), 6.95(m, 4H), 7.15(d, 2H), 7.86(s, 1H), 8.06(m, 2H), 8.41(s, 1H).
- 152> <실시예 5> (2S, 3S, 4R)-6-니트로-4-[N-(4-트라이플루오로메틸페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)아미노]-3-하이드록시-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란의 제조
- 153> 에폭사이드 화합물 (2S, 3S, 4S)-6-니트로-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-에폭시-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란 356 (1.26 mmol)과 (4-트라이플루오로메틸페닐)(1H-이미다졸-2-일메틸)아민 305 mg (1.26 mmol)을 사용하여 상기 실시예 1과 같은 방법으로 반응하여 목적화합물 146 mg (수율 22%)을 얻었다.
- 154> ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 1.51(s, 3H), 3.60(s, 3H), 3.61(s, 3H), 4.32(m, 3H), 4.57(s, 1H), 5.14(br s, 1H), 6.85(m, 2H), 6.95(m, 4H), 7.38(d, 2H), 7.91(s, 1H), 8.05(dd, 2H), 8.42(m, 1H).
- 155> <실시예 6> (2S, 3S, 4R)-6-니트로-4-[N-(4-메톡시페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)아미노]-3-하이드록시-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란의 제조
- 156> 에폭사이드 화합물 (2S, 3S, 4S)-6-니트로-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-에폭시-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란 591 mg (2.10 mmol)과 (4-메톡시페닐)(1H-이미다졸-2-일메틸)아민 427 mg (2.10 mmol)을 사용하여 상기 실시예 1과 같은 방법으로 반응하여 목적화합물 280 mg (수율 28%)을 얻었다.

- 157> ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 1.47(s, 3H), 3.59(d, 6H), 3.68(s, 3H), 4.30(m, 2H), 4.54(m, 2H), 5.02(d, 1H), 6.67-6.78(m, 4H), 6.89-7.26(m, 3H), 8.04(m, 2H).
- 158> <실시예 7>(2S,3S,4R)-6-니트로-4-[N-(4-트라이플루오로메톡시페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)아미노]-3-하이드록시-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란의 제조
- 159> 에폭사이드 화합물 (2S, 3S, 4S)-6-니트로-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-에폭시-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란 200 (0.71 mmol)과 (4-트라이플루오로메톡시페닐)(1H-이미다졸-2-일메틸)아민 183 mg (0.71 mmol)을 사용하여 상기 실시예 1과 같은 방법으로 반응하여 목적화합물 181 mg (수율 47%)을 얻었다.
- 160> ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 1.50(s, 3H), 3.60(d, 6H), 4.2-4.50(m, 2H), 4.58-5.65(m, 2H), 5.18(s, 1H), 6.91-6.95(m, 7H), 8.00(s, 1H), 8.05(dd, 1H).
- 161> <실시예 8>(2S,3S,4R)-6-니트로-4-[N-(4-브로모페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)아미노]-3-하이드록시-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란의 제조
- 162> 에폭사이드 화합물 (2S, 3S, 4S)-6-니트로-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-에폭시-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란 400 mg (1.42 mmol)과 (4-브로모페닐)(1H-이미다졸-2-일메틸)아민 359 mg (1.42 mmol)을 사용하여 상기 실시예 1과 같은 방법으로 반응하여 목적화합물 310 mg (수율 41%)을 얻었다.
- 163> ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 1.48(s, 3H), 3.61(d, 6H), 4.10-4.19(m, 2H), 4.20-4.40(m, 2H), 5.13(s, 1H), 6.70-7.01(m, 6H), 7.21(s, 1H), 7.94(s, 1H), 8.06(dd, 1H).

164> <실시예

9>(2S,3S,4R)-6-니트로-4-[N-(2,4-다이메틸페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)아미노]-3-하이드록시-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란의 제조

165> 에폭사이드 화합물 (2S, 3S, 4S)-6-니트로-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-에폭시-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란 400 mg (1.42 mmol)과 (2,4-다이메틸페닐)(1H-이미다졸-2-일메틸)아민 287 mg (1.42 mmol)을 사용하여 상기 실시예 1과 같은 방법으로 반응하여 목적화합물 231 mg (수율 33%)을 얻었다.

166> ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 1.39(s, 3H), 2.19(s, 3H), 2.47(s, 3H), 3.59(d, 6H), 4.15-4.82(m, 5H), 6.80-6.89(m, 5H), 7.58(d, 1H), 7.94-7.99(dd, 1H), 8.62(m, 1H).

167> <실시예 10>(2S,3S,4R)-6-니트로-4-[N-(2-아이소프로필페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)아미노]-3-하이드록시-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란의 제조

168> 에폭사이드 화합물 (2S, 3S, 4S)-6-니트로-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-에폭시-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란 400 mg (1.42 mmol)과 (2-아이소프로필페닐)(1H-이미다졸-2-일메틸)아민 306 mg (1.42 mmol)을 사용하여 상기 실시예 1과 같은 방법으로 반응하여 목적화합물 140 mg (수율 20%)을 얻었다.

169> ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 1.22-1.29(m, 10H), 3.60(d, 6H), 4.07-4.63(m, 5H), 6.79-7.35(m, 6H), 7.78(m, 1H), 7.99(dd, 1H), 8.61(m, 1H)

170> <실시예

11>(2S,3S,4R)-6-니트로-4-[N-(2,3-다이메틸페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)아미노]-3-하이드록시-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란의 제조

171> 에폭사이드 화합물 (2S, 3S, 4S)-6-니트로-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-에폭시-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란 400 mg (1.42 mmol)과 (2,3-다이메틸페닐)(1H-이미다졸-2-일메틸)아민 287 mg (1.42 mmol)을 사용하여 상기 실시예 1과 같은 방법으로 반응하여 목적화합물 253 mg (수율 37%)을 얻었다.

172> ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 1.39(s, 3H), 2.17(s, 3H), 2.41(s, 3H), 3.61(d, 6H), 4.26-4.74(m, 5H), 6.76-6.95(m, 4H), 6.98(m, 1H), 7.58(d, 1H), 7.95(dd, 1H), 8.63(d, 1H).

173> <실시예

12>(2R,3R,4S)-6-니트로-4-[N-(2,3-다이메틸페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)아미노]-3-하이드록시-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란의 제조

174> 에폭사이드 화합물 (2R, 3R, 4R)-6-니트로-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-에폭시-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란 500 mg (1.77 mmol)과 (2,3-다이메틸페닐)(1H-이미다졸-2-일메틸)아민 358 mg (1.77 mmol)을 사용하여 상기 실시예 1과 같은 방법으로 반응하여 목적화합물 416 mg (수율 49%)을 얻었다.

175> ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 1.39(s, 3H), 2.17(s, 3H), 2.41(s, 3H), 3.61(d, 6H), 4.26-4.74(m, 5H), 6.76-6.95(m, 4H), 6.98(m, 1H), 7.58(d, 1H), 7.95(dd, 1H), 8.63(d, 1H).

- 176> <실시예 13> (2R,3R,4S)-6-니트로-4-[N-(4-브로모페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)아미노]-3-하이드록시-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란의 제조
- 177> 에폭사이드 화합물 (2R, 3R, 4R)-6-니트로-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-에폭시-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란 500 mg (1.78 mmol)과 (4-브로모페닐)(1H-이미다졸-2-일메틸)아민 450 mg (1.78 mmol)을 사용하여 상기 실시예 1과 같은 방법으로 반응하여 목적화합물 570 mg (수율 60%)을 얻었다.
- 178> ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 1.48(s, 3H), 3.61(d, 6H), 4.10-4.19(m, 2H), 4.20-4.40(m, 2H), 5.13(s, 1H), 6.70-7.01(m, 6H), 7.21(s, 1H), 7.94(s, 1H), 8.06(dd, 1H).
- 179> <실시예 14> (2R,3R,4S)-6-니트로-4-[N-(4-메톡시페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)아미노]-3-하이드록시-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란의 제조
- 180> 에폭사이드 화합물 (2R, 3R, 4R)-6-니트로-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-에폭시-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란 300 mg (1.06 mmol)과 (4-메톡시페닐)(1H-이미다졸-2-일메틸)아민 216 mg (1.06 mmol)을 사용하여 상기 실시예 1과 같은 방법으로 반응하여 목적화합물 446 mg (수율 86%)을 얻었다.
- 181> ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 1.47(s, 3H), 3.59(d, 6H), 3.68(s, 3H), 4.30(m, 2H), 4.54(m, 2H), 5.02(d, 1H), 6.67-6.78(m, 4H), 6.89-7.26(m, 3H), 8.04(m, 2H).

:182> <실시예

15>(2S,3S,4R)-6-니트로-4-[N-(4-플루오로페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)아미노]-3-하이드록시-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란의 제조

:183> 에폭사이드 화합물 (2S, 3S, 4S)-6-니트로-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-에폭시-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란 800 mg (2.84 mmol)과 (4-플루오로페닐)(1H-이미다졸-2-일메틸)아민 380 mg (1.8 mmol)을 사용하여 상기 실시예 1과 같은 방법으로 반응하여 목적화합물 650 mg (수율 48%)을 얻었다.

:184> ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 1.49(s, 3H), 3.60(d, 6H), 4.30(m, 2H), 4.60(m, 2H), 5.05(m, 1H), 6.76-6.97(m, 7H), 7.95(s, 1H), 8.03(dd, 1H)

:185> <실시예 16>(2S,3S,4R)-6-니트로-4-[N-(2-메톡시페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)아미노]-3-하이드록시-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란의 제조

:186> 에폭사이드 화합물 (2S, 3S, 4S)-6-니트로-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-에폭시-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란 500 mg (1.78 mmol)과 (2-메톡시페닐)(1H-이미다졸-2-일메틸)아민 253 mg (1.25 mmol)을 사용하여 상기 실시예 1과 같은 방법으로 반응하여 목적화합물 500 mg (수율 58%)을 얻었다.

:187> ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 1.38(s, 3H), 3.60(d, 6H), 3.91(s, 3H), 3.97(m, 1H), 4.74(d, 1H), 4.60-4.84(m, 3H), 6.80-7.03(m, 6H), 7.58(m, 1H), 7.99(dd, 1H), 8.86(m, 1H)

- 188> <실시예 17> (2R,3R,4S)-6-니트로-4-[N-(2-아이소프로필페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)아미노]-3-하이드록시-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란의 제조
- 189> 에폭사이드 화합물 (2R, 3R, 4R)-6-니트로-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-에폭시-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란 100 mg (0.35 mmol)과 (2-아이소프로필페닐)(1H-이미다졸-2-일메틸)아민 75 mg (0.35 mmol)을 사용하여 상기 실시예 1과 같은 방법으로 반응하여 목적화합물 72 mg (수율 42%)을 얻었다.
- 190> ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 1.22-1.29(m, 10H), 3.60(d, 6H), 4.07-4.63(m, 5H), 6.79-7.35(m, 6H), 7.78(m, 1H), 7.99(dd, 1H), 8.61(m, 1H).
- 191> <실시예 18> (2R,3R,4S)-6-니트로-4-[N-(2-메톡시페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)아미노]-3-하이드록시-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란의 제조
- 192> 에폭사이드 화합물 (2R, 3R, 4R)-6-니트로-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-에폭시-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란 500 mg (1.78 mmol)과 (2-메톡시페닐)(1H-이미다졸-2-일메틸)아민 231 mg (1.78 mmol)을 사용하여 상기 실시예 1과 같은 방법으로 반응하여 목적화합물 580 mg (수율 67%)을 얻었다.
- 193> ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 1.38(s, 3H), 3.60(d, 6H), 3.91(s, 3H), 3.97(m, 1H), 4.74(d, 1H), 4.60-4.84(m, 3H), 6.80-7.03(m, 6H), 7.58(m, 1H), 7.99(dd, 1H), 8.86(m, 1H).
- 194> <실시예 19> (2R,3R,4S)-6-니트로-4-[N-(3-클로로페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)아미노]-3-하이드록시-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란의 제조

- 195> 에폭사이드 화합물 (2R, 3R, 4R)-6-니트로-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-에폭시-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란 500 mg (1.77 mmol)과 (3-클로로페닐)(1H-이미다졸-2-일메틸)아민 366 mg (1.77 mmol)을 사용하여 상기 실시예 1과 같은 방법으로 반응하여 목적화합물 337 mg (수율 39%)을 얻었다.
- 196> ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 1.51(s, 3H), 3.61(d, 6H), 4.20-4.57(m, 2H), 4.57-4.59(m, 2H), 5.17(s, 1H), 6.69-6.73(m, 3H), 6.94-7.01(m, 4H), 7.89(m, 1H), 8.04(dd, 1H).
- 197> <실시예 20>(2S,3S,4R)-6-니트로-4-[N-(3-클로로페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)아미노]-3-하이드록시-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란의 제조
- 198> 에폭사이드 화합물 (2S, 3S, 4S)-6-니트로-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-에폭시-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란 450 mg (1.6 mmol)과 (3-클로로페닐)(1H-이미다졸-2-일메틸)아민 232 mg (1.1 mmol)을 사용하여 상기 실시예 1과 같은 방법으로 반응하여 목적화합물 280 mg (수율 35%)을 얻었다.
- 199> ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 1.51(s, 3H), 3.61(d, 6H), 4.20-4.57(m, 2H), 4.57-4.59(m, 2H), 5.17(s, 1H), 6.69-6.73(m, 3H), 6.94-7.01(m, 4H), 7.89(m, 1H), 8.04(dd, 1H).
- 200> <실시예 21>(2R,3R,4S)-6-니트로-4-[N-(4-트라이플루오로메톡시페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)아미노]-3-하이드록시-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란의 제조
- 201> 에폭사이드 화합물 (2R, 3R, 4R)-6-니트로-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-에폭시-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란 200 mg (0.71 mmol)과 (4-트라이플루오로메톡시페닐)(1H-이미다졸

-2-일메틸)아민 183 mg (0.71 mmol)을 사용하여 상기 실시예 1과 같은 방법으로 반응하여 목적 화합물 155 mg (수율 40%)을 얻었다.

202> ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 1.49(s, 3H), 3.60(d, 6H), 4.20-4.50(m, 2H), 4.58-5.65(m, 2H), 5.18(s, 1H), 6.91-6.95(m, 7H), 7.99(s, 1H), 8.04(dd, 1H).

203> <실시예

22>(2S,3S,4R)-6-사이아노-4-[N-(4-클로로페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)아미노]-3-하이드록시-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란의 제조

204> 에폭사이드 화합물 (2S, 3S, 4S)-6-사이아노-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-에폭시-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란 210 mg (0.8 mmol)과 (4-클로로페닐)(1H-이미다졸-2-일메틸)아민 167 mg (0.8 mmol)을 사용하여 상기 실시예 1과 같은 방법으로 반응하여 목적화합물 106 mg (수율 28%)을 얻었다.

205> ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 1.47(s, 3H), 3.58(s, 3H), 3.62(s, 3H), 4.35(m, 1H), 4.57(s, 1H), 5.16(br s, 1H), 6.81-6.93(m, 3H), 7.17(d, 1H), 7.38(s, 1H), 7.51(dd, 1H).

206> <실시예 23>(2R,3R,4S)-6-아미노-4-[N-(4-클로로페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)아미노]-3-하이드록시-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란의 제조

207> 상기 실시예 3에서 얻은 니트로 화합물 521 mg (1.07 mmol)을 메탄올 3 mL에 녹인 후, 10% Pd/C 50 mg을 가하였다. 3 기압의 H_2 하에서 12시간동안 반응시켰다. 셀라이트 패드로 여

과하여 고체를 제거하고 여액을 농축시켰다. 잔류물을 실리카겔 판 크로마토그래피 (메탄올:다이클로로메탄 = 5:95)로 정제하여 목적화합물 368 mg (수율 75%)을 얻었다.

208> ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 1.42(s, 3H), 3.61(s, 6H), 4.27(m, 2H), 4.42(s, 1H), 4.52(d, 1H), 5.24(m, 1H), 6.29(s, 1H), 6.58(d, 2H), 6.70(d, 2H), 6.98(m, 3H), 7.41(m, 2H).

209> <실시예 24> (2S,3S,4R)-6-아미노-4-[N-(4-클로로페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)아미노]-3-하이드록시-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란의 제조

210> 상기 실시예 1에서 얻은 니트로 화합물 177 mg (0.36 mmol)을 메탄올 2 mL에 녹이고 $\text{Cu}(\text{OAc})_2$ 수용액 0.38 mL (0.4 M 수용액, 0.15 mmol)을 가하였다. 소듐보로하이드라이드 (NaBH_4) 113 mg (3.0 mmol)을 10분에 걸쳐 상온에서 천천히 가하였다. 1시간동안 교반한 후, 에틸 아세테이트 5 mL를 가하였다. 침전된 검은색 고체를 여과해서 제거하고, 여과된 용액에 포화 NaHCO_3 수용액 5 mL를 가하고 에틸 아세테이트 30 mL로 추출하였다. 소금물로 유기층을 세척하고 무수 황산나트륨으로 건조하고 용매를 제거한 후 실리카겔 판 크로마토그래피 (헥산:에틸 아세테이트 = 1:4)로 정제하여 목적화합물 58 mg (수율 35%)를 얻었다.

211> ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 1.42(s, 3H), 3.61(s, 6H), 4.27(m, 2H), 4.52(d, 1H), 4.42(s, 1H), 5.24(m, 1H), 6.29(s, 1H), 6.58(d, 2H), 6.70(d, 2H), 6.98(m, 3H), 7.41(m, 2H).

212> <실시예

25>(2S,3S,4R)-6-아미노-4-[N-(4-트라이플루오로메틸페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)아미노]-3-하이드록시-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란의 제조

213> 상기 실시예 5에서 얻은 니트로 화합물 65 mg (0.12 mmol)을 사용하여 상기 실시예 24와 같은 방법으로 반응하여 목적화합물 34 mg (수율 57%)을 얻었다.

214> ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 1.38(s, 3H), 3.60(s, 3H), 4.06-4.85(m, 3H), 4.41(s, 1H), 5.06(br s, 2H), 6.31(s, 1H), 6.57(d, 2H), 6.80-7.18(m, 7H)

215> <실시예 26>(2R,3R,4S)-6-아미노-4-[N-(4-트라이플루오로메톡시페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)아미노]-3-하이드록시-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란의 제조

216> 상기 실시예 21에서 얻은 니트로 화합물 100 mg (0.19 mmol)을 사용하여 상기 실시예 23과 같은 방법으로 반응하여 목적화합물 23 mg (수율 24%)을 얻었다.

217> ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 1.50(s, 3H), 3.60(d, 6H), 4.20-4.50(m, 2H), 4.59(s, 2H), 5.18(s, 1H), 6.30(s, 1H), 6.60(dd, 2H), 6.70-6.96(m, 6H)

218> <실시예

27>(2R,3R,4S)-6-아미노-4-[N-(2,3-다이에틸페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)아미노]-3-하이드록시-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란의 제조

219> 상기 실시예 12에서 얻은 니트로 화합물 135 mg (0.28 mmol)을 사용하여 상기 실시예 23과 같은 방법으로 반응하여 목적화합물 19 mg (수율 15%)을 얻었다.

- 220> ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 1.29(s, 3H), 2.27(s, 3H), 2.43(s, 3H), 3.60(s, 6H), 4.41-4.63(m, 5H), 6.57(dd, 1H), 6.70-7.19(m, 6H), 7.40(d, 1H)
- 221> <실시예 28>(2R,3R,4S)-6-아미노-4-[N-(4-메톡시페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)아미노]-3-하이드록시-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란의 제조
- 222> 상기 실시예 14에서 얻은 니트로 화합물 100 mg (0.21 mmol)을 사용하여 상기 실시예 23과 같은 방법으로 반응하여 목적화합물 21 mg (수율 23%)을 얻었다.
- 223> ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 1.36(s, 3H), 3.60(d, 6H), 3.64(s, 3H), 4.20-4.60(m, 3H), 4.45(s, 1H), 4.70-4.90(m, 2H), 6.50(m, 1H), 6.70(dd, 1H), 6.80-7.00(m, 6H), 7.40(d, 1H).
- 224> <실시예 29>(2R,3R,4S)-6-아미노-4-[N-(4-브로모페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)아미노]-3-하이드록시-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란의 제조
- 225> 상기 실시예 13에서 얻은 니트로 화합물 100 mg (0.19 mmol)을 사용하여 상기 실시예 23과 같은 방법으로 반응하여 목적화합물 50 mg (수율 53%)을 얻었다.
- 226> ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 1.48(s, 3H), 3.61(d, 6H), 4.10-4.19(m, 2H), 4.22(s, 2H), 5.13(s, 1H), 6.33-7.15(m, 9H).
- 227> <실시예 30>(2S,3S,4R)-6-아미노-4-[N-(2,3-다이에틸페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)아미노]-3-하이드록시-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란의 제조

- 228> 상기 실시예 11에서 얻은 니트로 화합물 70 mg (0.14 mmol)을 사용하여 상기 실시예 23과 같은 방법으로 반응하여 목적화합물 35 mg (수율 54%)을 얻었다.
- 229> ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 1.29(s, 3H), 2.27(s, 3H), 2.43(s, 3H), 3.60(s, 6H), 4.41-4.63(m, 5H), 6.57(dd, 1H), 6.70-7.19(m, 6H), 7.40(d, 1H)
- 230> <실시예 31>(2S,3S,4R)-6-아미노-4-[N-(2-메톡시페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)아미노]-3-하이드록시-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란의 제조
- 231> 상기 실시예 16에서 얻은 니트로 화합물 80 mg (0.16 mmol)을 사용하여 상기 실시예 23과 같은 방법으로 반응하여 목적화합물 74 mg (수율 66%)을 얻었다.
- 232> ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 1.30(s, 3H), 3.60(d, 6H), 3.80(s, 3H), 4.10-4.30(m, 2H), 4.45(s, 1H), 4.70-4.90(m, 2H), 6.50(dd, 1H), 6.70-7.00(m, 7H), 7.40(d, 1H).
- 233> <실시예 32>(2S,3S,4R)-6-아미노-4-[N-(4-메톡시페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)아미노]-3-하이드록시-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란의 제조
- 234> 상기 실시예 6에서 얻은 니트로 화합물 103 mg (0.21 mmol)을 사용하여 상기 실시예 23과 같은 방법으로 반응하여 목적화합물 74 mg (수율 77%)을 얻었다.
- 235> ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 1.36(s, 3H), 3.60(d, 6H), 3.64(s, 3H), 4.20-4.60(m, 3H), 4.45(s, 1H), 4.70-4.90(m, 2H), 6.50(m, 1H), 6.70(dd, 1H), 6.80-7.00(m, 6H), 7.40(d, 1H).

236> <실시예

33> (2S,3S,4R)-6-아미노-4-[N-(2,4-다이메틸페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)아미노]-3-하이드록시-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란의 제조

237> 상기 실시예 9에서 얻은 니트로 화합물 86 mg (0.18 mmol)을 사용하여 상기 실시예 23과 같은 방법으로 반응하여 목적화합물 54 mg (수율 67%)을 얻었다.

238> ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 1.26(s, 3H), 2.20(s, 3H), 2.43(s, 3H), 3.58(s, 6H), 4.36-4.54(m, 3H), 4.60(m, 2H), 6.56(dd, 1H), 6.70(dd, 1H), 6.80-7.15(m, 6H), 7.36(d, 1H).

239> <실시예 34> (2S,3S,4R)-6-아미노-4-[N-(2-아이소프로필페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)아미노]-3-하이드록시-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란의 제조

240> 상기 실시예 10에서 얻은 니트로 화합물 45 mg (0.09 mmol)을 사용하여 상기 실시예 23과 같은 방법으로 반응하여 목적화합물 30 mg (수율 73%)을 얻었다.

241> ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 1.22-1.29(m, 9H), 3.60(d, 6H), 4.10-4.62(m, 5H), 6.50-6.77(m, 2H), 6.85-7.30(m, 6H), 7.60(m, 1H).

242> <실시예 35> (2S,3S,4R)-6-아미노-4-[N-(4-트라이플루오로메톡시페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)아미노]-3-하이드록시-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란의 제조

243> 상기 실시예 7에서 얻은 니트로 화합물 50 mg (0.10 mmol)을 사용하여 상기 실시예 23과 같은 방법으로 반응하여 목적화합물 34 mg (수율 72%)을 얻었다.

- 244> ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 1.50(s, 3H), 3.60(d, 6H), 4.20-4.50(m, 2H), 4.59(s, 2H), 5.18(s, 1H), 6.30(s, 1H), 6.60(dd, 2H), 6.70-6.96(m, 6H).
- 245> <실시예 36> (2S, 3S, 4R)-6-아미노-4-[N-(4-브로모페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)아미노]-3-하이드록시-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란의 제조
- 246> 상기 실시예 8에서 얻은 니트로 화합물 50 mg (0.10 mmol)을 사용하여 상기 실시예 23과 같은 방법으로 반응하여 목적화합물 41 mg (수율 88%)을 얻었다.
- 247> ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 1.48(s, 3H), 3.61(d, 6H), 4.10-4.19(m, 2H), 4.22(s, 2H), 5.13(s, 1H), 6.33-7.15(m, 9H).
- 248> <실시예 37> (2S, 3S, 4R)-6-아미노-4-[N-(4-플루오로페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)아미노]-3-하이드록시-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란의 제조
- 249> 상기 실시예 15에서 얻은 니트로 화합물 50 mg (0.10 mmol)을 사용하여 상기 실시예 23과 같은 방법으로 반응하여 목적화합물 44 mg (수율 95%)을 얻었다.
- 250> ^1H NMR (200 MHz, CDCl_3) δ 1.49(s, 3H), 3.60(d, 6H), 4.30(m, 4H), 4.98(s, 1H), 6.33(s, 1H), 6.55(dd, 2H), 6.60-6.92(m, 6H)
- 251> 본 발명에 의한 화학식 1의 화합물들에 대하여 하기와 같은 실험을 실시하여 여러 가지 약리작용을 조사하였다.

252> <실험예 1> HUVEC 세포에서의 관형성 (Tube Formation) 억제효과

253> 시험물질들의 신생혈관 형성 억제 활성을 세포단계에서 측정하기 위하여 다음과 같은 실험을 실시하였다. 사람 탯줄에서 1차 배양한(primary culture) 혈관내피세포인 HUVEC (Human Umbilical Vein Endothelial Cell)세포를 배양하여 passage 5이내의 세포를 매트릭셀 (matrigel) 위에서 모세혈관과 같은 구조의 관형성을 염기성 섬유아 성장인자 (bFGF, basic Fibroblast Growth Factor)로 유도하고 각 화합물이 관형성에 미치는 영향을 용매만 처리한 대조군과 비교 관찰함으로써 신생혈관형성 억제작용을 간접적으로 in vitro에서 확인하였다. 결과는 하기 표 1에 나타내었다.

254> 【표 1】

화합식 1 화합물의 HUVEC 세포에서의 관 (tube) 형성 억제효과

	관 형 성		
	10 μ M	50 μ M	100 μ M
실지예 1	+	+	++
실지예 2	+++		++
실지예 3		++	
실지예 4		+	
실지예 5		++	
실지예 6		+	
실지예 7		+	
실지예 8		+	
실지예 9		+	
실지예 10		++	
실지예 12		+	
실지예 13		+	
실지예 14		+	
실지예 22	+		++
실지예 23		+++	
실지예 24	+		+
실지예 25	+/-		+/-
실지예 26		+	
실지예 27		+/-	
실지예 28		+	
실지예 29		+	

255> * - ;효과 없음, +/- ; 미미한 억제효과, + ; 중정도 억제효과,

256> ++ ; 강한 억제효과, +++ ; 관형성이 나타나지 않음

257> 상기 표 1에서 보는 바와 같이, 실시예 2의 화합물은 10 μ M의 농도에서 관형성 (tube formation)을 강하게 억제하였으며, 100 μ M의 농도에서는 관형성이 보이지 않아 농도 의존적으로 강한 억제효과를 나타내었다. 실시예 3, 5, 10의 화합물들은 50 μ M의 농도에서 강한 관형성 억제효과를 보여 신생혈관 형성 억제효과가 뚜렷하였으며, 특히 실시예 23의 화합물은 50 μ M의 농도에서 관형성이 전혀 보이지 않아 강력한 신생혈관 억제효과를 나타내었다.

258> 이와 같이 본 발명의 화합물들은 bFGF로 유도한 혈관 내피세포의 관형성을 강하게 억제하여 신생혈관의 형성을 억제하는 효과가 우수하므로, 신생혈관 형성으로부터 비롯되는 류마티스성 관절염, 건선, 에이즈 합병증, 암, 당뇨병 망막증과 같은 여러 가지 질병 치료에 유용하게 사용될 수 있다.

259> <실험예 2> 마우스에서 매트릭젤의 혈관신생 억제효과(Mouse Matrigel Assay)

260> 시험물질들의 혈관신생억제 활성을 동물실험에서 측정하기 위하여 다음과 같은 실험을 실시하였다.

261> 혈관신생을 유도하기 위하여 6~8 주령의 C57BL/6 마우스에 매트릭젤과 혈관신생 유도인자인 염기성 섬유아 성장인자 (bFGF, basic Fibroblast Growth Factor) 25 ng 및 헤파린 30 units를 혼합하여 피하주사하였다. 시험물질을 매트릭젤 혼합물에 섞어 피하주사 (2.2 mg/ml) 하거나, 또는 하루 2 mg씩 (1 mg씩 오전, 오후 1일 2회) 4일간 (총 8 mg/마리) 경구투여하였다

. 피하주사 및 경구투여 후 4-7일에 표피를 제거하여 마트리젤을 회수하였으며 회수한 젤로부터 Drabkin 시약 (KIt 525, Sigma)을 이용하여 헤모글로빈 양을 측정한 후 평균을 내고, 대조군과 비교함으로써 혈관생성억제 정도를 정량적으로 측정하였다.

262> 【표 2】

화학식 1 화합물의 마우스에서의 신생혈관 억제효과(Mouse matrigel Assay)

	% Inhibition	
	피하주사	경구투여
Control	0	0
실시예 1	79	94

263> 상기 표 2에서 보는 바와 같이, 실시예 1의 화합물은 피하주사 (2.2 mg/ml) 및 경구투여 (8.8 mg/마리)에 의해 마트리젤의 헤모글로빈양을 각각 79%, 94% 억제하여 in vivo에서 혈관생성을 유의성있게 억제하였다. 이와 같이 본 발명의 화합물들은 in vivo 마트리젤 실험에서 신생혈관의 형성을 억제하는 효과가 우수하므로, 신생혈관 형성으로부터 비롯되는 류마티스성 관절염, 건선, 에이즈 합병증, 암, 당뇨병 망막증과 같은 여러 가지 질병 치료에 유용하게 사용될 수 있다.

264> <실험예 3> CAM (chrioallatonic membrane) Assay 에서 혈관신생 억제효과

265> 시험물질들의 혈관신생억제 활성을 측정하기 위하여 다음과 같은 in vivo CAM assay를 실시하였다.

266> chick egg를 90% 습도가 유지되는 37 °C 배양기에서 3일 동안 배양하였다.

egg내의 알부민을 약 2 ml 정도 뽑아내고 egg에 원형창을 내어 egg의 CAM 바깥막을 제거하였다. 약 4일후 배가 되었을 때 화합물이 도포된 thermanox coverslip을 egg의 배 CAM 위에 얹는다. 다시 2일 동안 배양한 후, 주사기를 이용하여 fat emulsion을 CAM에 주입하여 CAM에서의 혈관형성에 대한 영향을 해부현미경으로 관찰한다. 특히 실시예 화합물들의 신생혈관 억제제의 효과를 확인하기 위하여 thermanox coverslip 아래 avascular zone을 관찰하였다. 이 때 음성 대조군은 thermanox coverslip만을, 양성 대조군은 retinoic acid (1 $\mu\text{g}/\text{egg}$)를 처리하였다.

<267> 【표 3】

화학식 1 화합물의 CAM Assay에서의 신생혈관 억제효과

	% Inhibition	
	0.5 $\mu\text{g}/\text{egg}$	1.5 $\mu\text{g}/\text{egg}$
실시예 1	62	84

<268> 상기 표 3에서 보듯이, 실시예 1의 화합물은 0.5, 1.5 $\mu\text{g}/\text{egg}$ 으로 처리하여, 각각 약 62, 84%의 억제효과를 보였으며, 억제효과를 보인 egg에서는 그 정도가 확실하게 나타났고 농도의존성이 있었다. 이와 같이 본 발명의 화합물은 in vivo CAM assay에서 신생혈관의 형성을 억제하는 효과가 우수하므로, 신생혈관 형성으로부터 비롯되는 류마티스성 관절염, 건선, 에이즈 합병증, 암, 당뇨병 망막증과 같은 여러 가지 질병 치료에 유용하게 사용될 수 있다.

<269> <실험예 4> 누드마우스를 이용한 항암효과 측정

<270> 본 발명에 의한 화학식 1의 화합물들이 누드마우스 종양이식 모델에서 항암효과를 나타내는지를 알아보기 위해, 하기 실험을 수행하였다.

271> 실험에 이용한 누드 마우스는 (BALB/c *nu/nu*, male) Charles River Japan, Inc.에서 구입하였으며 NIH (national institutes of health) 에서 정한 규정에 따라 SPF (Special Pathogene Free) 관리하에서 사육, 실험하였다. 사람의 폐암 조직으로부터 분리한 human non small cell lung cancer 인 A549는 ATCC (american tissue cancer collection, USA)로부터 구입하여 한국화학연구원에서 계대 유지한 것을 사용하였다. 이식된 암의 크기를 측정하여 종양 성장에 대한 억제효과를 측정하였으며 화합물들에 의한 누드마우스의 체중변화, 생존율도 측정하여 독성도 관측하였다.

272> (1) 이식된 암의 크기 측정

273> 누드 마우스는 구입 후 2-3주 동안 실험실에 적응하도록 한 후 8주령 (18-20g)인 수컷 누드 마우스를 골라 암을 이식하였다. 계대 하기에 적당한 크기로 자란 A549를 3 × 8 × 8 mm³ 크기로 잘라 누드마우스의 오른쪽 겨드랑이 피하에 (s.c.) 이식한 뒤, 24시간 경과 후 약물투여를 시작하였으며, 이때를 첫째 날 (1일)로 하였다. 약물 투여는 대조군은 0.5% tween-80을 실험군은 실시예 23의 화합물 (50 mg/kg)을 20일 동안 연속하여 하루에 한번 복강으로 (i.p.) 투여하였다. 투여 후 암의 크기는 caliper를 이용하여 암의 직경 (long diameter(a), short diameter(b))을 측정하고 하기 수학적 식 1에 따라 암의 크기를 (volume, V) 측정하였다.

274>
$$\text{Volume (mm}^3\text{)} = a \times b^2 / 2$$

【수학적 식 1】

275> 약물 투여에 의한 항암 효과를 나타내기 위하여 약물 투여 후 n일 경과한 뒤의 암의 크기 (Vn)를 측정하여 각각의 대조군과 (Vc) 실험군의 (V_T) 평균값을 (the mean tumor size ± S.E., 8 mice per group) 나타내었다.

276> 각각의 대조군과 실험군의 유의성 검증은 student-T test (*p<0.05)로 나타내었다.

277> 【표 4】

화학식 1 화합물의 누드마우스에서 A549 (human non small cell lung cancer, 인간 폐암세포)의 성장 억제 효과

	종양크기 (mm ³), 억제율(%)			
	25일	35일	45일	65일
대조군	152.88	308.46	483.92	1034.88
실시예 23	92.20	186.78	244.30	494.82

278> 상기 표 4에 나타났듯이 실시예 23의 화합물은 non small cell lung cancer 세포인 A549를 누드마우스에 이식하여 종양크기를 관측한 결과 대조군에 비하여 종양성장을 억제하였으며 약물투여 시작일로부터 45일, 61일에는 각각 50%, 52%의 유의성 있는 종양성장 억제를 나타내었다. 이와같이 본 발명의 화합물들은 혈관신생억제효과를 나타낼 뿐만 아니라 누드마우스에서 항암효과를 나타냄으로써 항암제로서 사용될 수 있다.

279> (2) 마우스 몸무게 변화의 측정

280> 본 발명에 의한 화학식 1의 화합물로 인한 마우스의 몸무게 변화를 알아보기 위하여 실험에 사용한 누드 마우스의 몸무게는 약물 투여를 시작하는 날로부터 5일 간격으로 동물용 저울(AND balance)을 이용하여 구하였다. 약물 투여를 시작하는 첫날 몸무게 (W₀)와 약물투여후 n일 경과한 뒤의 몸무게(W_n)을 측정하여, 각각의 대조군(W_c)과 실험군(W_t)의 평균값을 구하였다.

281> 【표 5】

A549 이식 누드마우스에서 화학식 1 화합물의 체중에 대한 영향

	체중 (g)			
	1일	14일	25일	35일
대조군	22.50	25.16	25.43	25.88
실시예 23	22.30	25.42	26.17	27.10

282> 상기 표 5에서 보듯이 실시예 23의 화합물은 대조군과 비교하여 체중증가에 대한 영향이 없었으므로 화합물에 의한 체중감소의 부작용이 없이 항암작용을 나타냈다.

283> (3) 마우스 생존율 측정 (survival percents)

284> 본 발명에 의한 화학식 1의 화합물 투여에 의한 독성의 측정과 시간이 경과함에 따라 각각의 암을 이식한 마우스의 생존율을 나타내기 위하여 생존율 % 값을 사용하였다. 생존율 %의 값은 약물투여를 시작하는 첫날에 마우스의 마리수 (No)와, 약물 투여 후 n일 경과 한 뒤의 마우스의 마리수(Nn)을 측정하여 하기 수학적 2에 따라 생존율 %를 측정하였다.

285> 【수학적 2】 생존율 % = $Nn/No \times 100$

286> 【표 6】

A549를 이식한 누드마우스에서 화학식 1 화합물의 생존율에 대한 영향

	생존율			
	1일	5일	15일	20일
대조군	100%	100%	100%	100%
실시예 23	100%	100%	100%	100%

287> 상기 표 6에서 보듯이 실시예 23의 화합물은 100%의 생존율을 보여 기존의 항암제에 비하여 독성이 현저하게 감소하였음을 나타냈다. 따라서 본발명의 화합물들은 부작용 및 독성이 현저하게 감소되었으며 유의성있게 종양성장을 억제하여 항암제로서 유용하게 사용될 수 있다

288> <실험예 5> 철에 대한 신경세포 보호작용

- 289> 본 발명에 의한 화학식 1의 화합물들이 철에 의한 신경세포의 손상 및 괴사를 억제하는 작용을 알아보기 위하여, 하기와 같은 실험을 수행하였다.
- 290> 17~18일 된 태아 쥐의 뇌에서 대뇌피질 신경세포 (cortical neuron)를 분리하여 5% CO₂ 배양기 (incubator)에서 37 °C로 7~9일 동안 배양하였다. 신경세포를 MEM (Minimum essential medium) 배지로 두 번 씻어 혈청 (serum)의 농도를 0.2%로 낮추고 시험 물질을 4 배씩 계대희석 (serial dilution)하여 최종농도가 각각 30, 7.5, 1.875 및 0.469 μ M이 되도록 첨가하여 30분간 전처리하였다. 이 때, 시험 물질은 DMSO에 녹인 후 배지에 희석하여 사용하였으며 DMSO의 최종 농도는 0.1%를 넘지 않도록 하였다. 대조군으로는 용매만을 첨가한 것을 사용하였다.
- 291> 상기와 같은 전처리 과정 후, 최종 농도가 50 μ M이 되도록 FeSO₄를 첨가하고 CO₂ 배양기에서 24시간 동안 배양하였다. 배양 과정에서 철에 의해 젖산염 탈수소효소 (lactate dehydrogenase, LDH)의 양이 증가하였으며, 배지에 유리된 LDH의 양을 측정하여 철의 산화독성에 의해 세포가 사멸된 정도를 평가하였다. 시험 물질의 신경세포 보호 효과는 대조군의 LDH 양을 기준으로 했을 때 LDH의 양의 감소율을 계산하여 농도-신경보호효과 반응곡선을 구하고, 최소선형회귀 (least linear regression) 분석을 통해 약물 투여에 의한 50% 이완농도인 IC₅₀를 산출하였다. 판단하였다. 결과는 하기 표 7에 나타내었다.

292> 【표 7】

화학식 1 화합물의 철에 대한 신경세포 보호효과

화합물	철에 대한 신경세포 보호효과	
	억제율	IC ₅₀
실시예 2	(%, 30 μ M 화합물 첨가시)	6.2

- 293> 상기 표 7에서 볼 수 있는 바와 같이, 실시예 2의 화합물들은 30 μM 에서 92%의 억제효과를 나타냈으며 6.2 μM 의 IC_{50} 를 나타내어 철에 의한 신경세포의 손상을 억제하는 효과가 우수하였다.
- 294> 이와 같이 본 발명의 화합물들은 철에 의해 유발된 신경독성에 대해 우수한 신경세포 보호작용을 나타내므로, 신경세포의 손상 또는 괴사에 의해 유발되는 뇌졸중, 치매 등과 같은 퇴행성 신경계 질환 뿐만 아니라 관절염 등의 염증성 질환, 심근 경색증, 급만성 조직 손상의 예방제 또는 치료제로 유용하게 사용될 수 있다.
- 295> <실험예 6> 철에 의해 유발되는 지질 과산화 억제 효과
- 296> 본 발명에 의한 화학식 1의 화합물들이 철에 의해 유발되는 지질 과산화를 억제하는 효과를 알아보기 위하여, 하기와 같은 실험을 수행하였다.
- 297> 쥐 (rat)의 뇌를 크레브스 (Krebs) 완충액 (15 mM HEPES, 10 mM glucose, 140 mM NaCl, 3.6 mM KCl, 1.5 mM CaCl_2 , 1.4 mM KH_2PO_4 , 0.7 mM MgCl_2 , pH 7.4)에 넣어 균질화한 후 12,000 rpm으로 10분간 원심분리하여 상등액인 뇌 균질물을 지질의 원료로 사용하였다. 뇌균질물에 최종 농도 400 μM 가 되도록 FeCl_2 를 가하고 37 $^{\circ}\text{C}$ 에서 30분간 방치하여 산화를 촉진시켰다. 이때, 시험 물질은 100 μM 씩 첨가하였고, 대조군으로는 용매만을 첨가한 것을 사용하였다.
- 298> 뇌 균질물에 철이 첨가되면 산화가 촉진되어 지질 과산화 산물인 말론알데하이드 (Malonaldehyde, MDA)의 양이 증가하므로, MDA 정량법으로 지질 과산화 정도를 판단하였다. 시험 물질의 지질 과산화 억제 효과는 대조군의 MDA 양을 기준으로 했을 때 MDA의 양이 감소된 정도로 계산하였다.

299> 한편 MDA 정량법은 시료를 TBA (2-thiobarbituric acid)와 반응시켜 530 nm에서의 흡광도를 측정하는 것이 일반적이지만, 끓이는 단계가 포함되기 때문에 대용량의 시료를 처리하기에는 부적합하다. 따라서 본 발명에서는 TBA 대신에 발색시약인 N-메틸-2-페닐인돌 (N-methyl-2-phenylindole)을 사용하였다. 이 경우 MDA 한 분자와 N-메틸-2-페닐인돌 두 분자가 반응하여 발색체를 형성하고 이 발색체는 586 nm에서 최대 흡광도를 나타내며, 끓이는 과정을 필요로 하지 않는다 (Bioxytech® LPO-586 Kit로 흡광도 측정). 실험 결과는 하기 표 8에 나타내었다.

300> 【표 8】

화학식 1 화합물의 철에 의해 유발된 지질 과산화 억제효과

화합물	철에 의한 지질 과산화 억제효과
실시에 24	83
실시에 25	97

301> 상기 표 8에서 볼 수 있는 바와 같이, 본 발명의 화합물들은 철에 의한 지질 과산화를 억제하였다. 실시에 24, 25의 화합물들은 83%, 97%의 억제율을 나타내어 철에 의한 지질 과산화를 억제하는 효과가 강력함을 알 수 있다. 따라서 본 발명의 화합물들은 지질 과산화가 촉진되고 신경세포 내에 산화물질이 축적되어 유발되는 뇌졸중, 치매 등과 같은 퇴행성 신경계질환 뿐만 아니라 관절염 등의 염증성 질환, 심근 경색증, 급만성 조직 손상의 예방제 또는 치료제로 유용하게 사용될 수 있다.

302> <실험예 7> 흰쥐 적출 혈관에 대한 이완작용

- 303> 본 발명에 의한 화학식 1의 화합물들이 혈관을 이완시키는 작용을 하는지 알아보기 위하여, 하기와 같은 실험을 수행하였다.
- 304> 흰쥐 (350~450 g, 한국화학연구원 실험동물실)의 후두부를 강타하여 기절시키고 경동맥을 통해 실험시킨 다음 가슴 부분을 절개하였다. 흉곽 대동맥을 신속히 적출하여 지방조직 등을 제거하고 3 mm 길이의 대동맥 고리 (aortic ring)를 얻었다. 내피를 제거하기 위해 대동맥을 생리액 (Krebs Henseleit buffer)으로 적신 솜방망이로 혈관 내벽을 가볍게 문질러 주었다. 혈관 조직을 생리액이 담긴 수조 (organ bath) 내에 걸고 2 g의 정지 장력 (resting tension)을 가하였으며, 37 °C에서 95% O₂ - 5% CO₂ 혼합기체 (carbogen)를 공급하면서 이 상태로 1시간 정도 안정화시켰다. 이후 10⁻⁵ M 페닐에프린 (phenylephrine)을 가해 혈관 조직을 수축시키고 생리액으로 2회 세척하는 조작을 2 회 반복하여 혈관 평활근의 수축 이완 반응이 재현성있게 유발되도록 하였다.
- 305> 한편, 혈관 평활근은 3 × 10⁻⁶ M 메톡사민 (Methoxamine)을 가하여 강하게 수축되도록 하였다. 메톡사민에 의해 혈관의 수축 반응이 정점에 도달하여 그대로 유지될 때 각각의 수조에 시험물질 및 대조물질을 누적되도록 (1, 3, 10, 30 μM) 가하여 약물에 의한 혈관의 이완 작용을 유도시켰다. 이 때, 대조군의 물질로는 각각 혈관 이완작용이 큰 1세대 K_{ATP} 개방제인 크로마칼림 (Cromakalim)과 BMS사의 BMS-180448 (화학식 2의 화합물) 및 BMS-191095을 사용하였다.
- 306> 약물을 투여하기 전 메톡사민에 의한 최고 수축력의 변화율을 계산하여 농도-이완 반응 곡선을 구하고, 최소선형회귀 (least linear regression) 분석을 통해 약물 투여에 의한 50% 이완농도인 IC₅₀를 산출하였다. 결과는 하기 표 9에 나타내었다.

307> 【표 9】

화학식 1의 화합물의 혈관이완작용

화합물	쥐 대동맥에서 메톡사민 수축 저해 정도
BMS-180448	1.38 (IC ₅₀ , μ M)
BMS-191095	2.14
실시예 1	9.83

308> 크로마칼림은 IC₅₀이 0.067 μ M로서 메톡사민 (3 μ M)으로 수축된 흰쥐 적출 대동맥에 대해서 강력한 이완작용을 나타냈고, BMS-180448과 BMS-191095는 IC₅₀이 각각 1.38 μ M, 2.14 μ M로 나타나 크로마칼림에 비해 약 20배 및 30배 정도 약한 혈관이완작용을 보였다. 반면, 실시예 1의 화합물은 IC₅₀가 9.83 μ M로 높게 나타나, 대조약물로 공지의 크로마칼림이나 BMS-180448, BMS-191095보다 혈관이완작용이 현저하게 낮았다.

309> 본 발명에 의한 화합물은 심장 또는 뇌에 있는 K_{ATP}에 작용하면 이들 장기를 보호하게 되고, 관상 및 말초혈관에 있는 K_{ATP}에 작용하면 혈관을 이완시켜 혈압을 떨어뜨리게 된다. 혈압 강하작용은 뇌 또는 심장으로 흐르는 관류량의 저하를 일으켜 허혈장기에 대해 부정적 효과를 나타내므로 조직 및 장기보호제로서의 사용을 제한하게 한다. 따라서 본 발명의 화합물들은 혈관이완작용이 약하여 허혈-재관류에 의한 뇌 또는 심장 등 장기손상의 보호제로서 바람직하다는 것을 알 수 있다.

310> 이와 같이 본 발명의 화합물들은 혈관을 이완시키는 작용이 매우 약하여 뇌 또는 심장 등의 허혈 장기 보호기능의 선택성이 매우 향상되어 있음을 알 수 있다.

311> <실험예 8> 흰쥐의 적출 허혈심장에 대한 심장 보호작용

- 312> 본 발명에 의한 화학식 1의 화합물들이 적출심장에서 허혈 심장을 보호하는 작용을 나타내는지 알아보기 위하여, 흰쥐에 대한 항허혈 효과 (Anti-ischemic effects)를 하기와 같은 적출심장 실험을 통해 조사하였다.
- 313> 숫컷 흰쥐 (300 - 450 g, 한국화학연구원 실험동물실)에 페노발비탈 나트륨염 (Sodium pentobarbital)을 100 mg/kg을 복강내 주사하여 마취시킨후 헤파린 1000 U/kg을 정맥 투여하고 심장을 적출하였다. 구체적으로 기관에 캐놀라 (cannula, PE 240)를 삽입하고 설치류 호흡기 (rodent ventilator)를 이용해 인공호흡시키며, 그 상태에서 대동맥 캐놀라 (cannula)를 대동맥에 삽입하고 역행성 관류하에 심장을 적출해 랑젠돌프 기기 (Langendorff Apparatus)에 재빨리 매달고 심장에 붙어있는 불필요한 조직을 제거한 후, 정압 관류 (85 mmHg)하에서 95% O₂/5% CO₂로 포화된 37 °C의 생리액 (modified Krebs-Henseleit bicarbonate buffer (조성 <math>\text{mM/L}>: 116 \text{ NaCl}, 4.7 \text{ KCl}, 1.1 \text{ MgSO}_4, 1.17 \text{ KH}_2\text{PO}_4, 24.9 \text{ NaHCO}_3, 2.52 \text{ CaCl}_2, 8.32 \text{ Glucose}, 2.0 \text{ Pyruvate}>))으로 관류시켰다. 에탄올과 증류수 혼합액 (1:1 vol/vol)으로 채운 고무 풍선 (latex balloon)이 연결된 금속 캐놀라를 폐정맥을 통해 좌심실에 삽입시키고 풍선에 전달되는 좌심실압을 압력 변압기 (pressure transducer)를 통해 등량적으로 (isovolumetric) 확대기 (Plugsys bridge amplifier)로 처리하여 기록계 (Linearcorder mark 8 WR 3500)에 기록하였다. 심장을 15분 동안 안정화시킨후 좌심실 이완기말압 (LVEDP, left ventricular enddiastolic pressure)을 5 mmHg로 주고 이 풍선 부피를 전 실험 기간 동안 유지시켰다.
- 314> 염기성 (Baseline) 심장 수축 기능과 심박동수 (HR, heart rate) 및 관상혈류 (CF, coronary flow)를 측정하였다. 심장 수축 기능을 평가하는 지표인 좌심실 발생압 (LVDP, left ventricular developed pressure)은 좌심실 최대 수축기압 (LVSP, left ventricular peak systolic pressure)과 좌심실 이완기말압 (LVEDP, left ventricular end diastolic ptrssure)

의 차이로 산출하였다. 생체내 심장과 달리 심장 박출량 (cardiac output)을 측정할 수 없는 랑겐돌프 심장 (Langendorff heart)에서 간접적으로 심장의 기능 (cardiac performance)을 알아보는 중요한 지표인 심박동수-압력의 곱 (Double product RPP (rate-pressure product))은 심박동수 (HR)에 좌심실 발생압 (LVDP)을 곱하여 계산하였다. 총 관상혈류량은 대동맥 캐놀라 (aortic cannula)위에 고정된 관상 혈류 프로브 (coronary flow probe, 직경: 1.0mm)를 이용하여 전자 유속계 (electromagnetic flowmeter)로 측정하였다. 심장의 온도는 실험 전 기간에 걸쳐 심장을 95% O₂/ 5% CO₂가 지속적으로 공급되는 37℃의 생리액에 담금으로서 일정하게 유지하였다. 안정화후 심장은 용매 (0.04% dimethylsulfoxide [DMSO]) 또는 일정 농도의 본 발명에 의한 화합물 및 대조약물을 함유하는 용액으로 각각 10분 동안 관류시킨후, 심장 수축 기능과 심박동수 (HR, heart rate) 및 관상혈류 (CF, coronary flow)를 재차 측정후 관류액 공급을 완전히 차단하여 30분 동안 전허혈 (global ischemia)을 유발하였다. 전허혈 (Global ischemia) 기간동안 좌심실 이완기말 압력 (LVDP)이 5 mmHg 상승시까지 소요된 시간 (min)을 수축유발시간 (TTC, time to contracture) 으로 계산하였다. 계속해서 30분 동안 관류액을 완전히 재관류한 후에 각 지표 (LVDP, HR, CF)를 재차 측정하였다. 또한 30분 동안 재관류 후에 총 재관류액 중의 젖산염 탈수소효소 (lactate dehydrogenase, LDH) 농도를 키트를 이용해 측정하여 허혈 심근손상의 지표로 삼았다.

315> 【표 10】

화학식 1의 화합물의 원취의 적출 허혈심장에 대한 항허혈작용 (심장보호작용)

시험약물	원취 적출 허혈심장에 대한 심장보호작용			
	LVDP x HR (%)	EDP	TTC	LDH
용매	23.0	43.4	20.3	29.9
BMS-180448	67.6	16.5	27.8	17.2
실시예 1	55.7	24.0	28.0	10.7

316> 상기 표 10에서 볼 수 있듯이 흰쥐의 적출심장을 이용한 적출 허혈심장 실험에서, 용매 투여군에서는 좌심실 발생압 (LVDP)과 심박동수를 같이 고려하여 심장의 수축기능을 더 잘 반영하는 두 지표의 곱 (Double Product parameter, LVDP x HR)이 재관류후에 약물 투여전의 23.0%로 현저히 저하되었으며, 항허혈작용 (심장보호작용)을 나타내는 또 다른 지표인 재관류 이완기말압도 5 mmHg에서 43.4 mmHg로 유의성있게 증가되었고, 수축유발시간 (TTC)은 20.3분이 었다. 세포손상의 지표가 되는 효소인 젖산염 탈수소효소 (LDH)의 재관류시의 유리량은 29.9 u/g이었다. BMS-180448투여군은 재관류후의 심근 수축 기능 (LVDP x HR)이 약물 투여전의 67.6%로 용매군에 비하여 현저히 증가되었으며 이완기말압 (EDP)은 16.5 mmHg으로 용매군보다 유의성있게 낮았고, TTC는 27.8분으로 연장되었으며, 재관류시 LDH 유리량은 17.2 u/g으로 감소되어, 모든 지표에서 용매군에 비해 유의성 있게 허혈심장의 뚜렷한 보호효과를 나타냈다. 실시예 1의 화합물은 BMS-180448과 비교하여 혈관 이완작용이 7 배 낮으면서도 ($IC_{50} = 9.83 \mu M$) 심근 수축 기능 (LVDP x HR)이 약물 투여전의 55.7%, EDP는 24.0 mmHg, TTC는 28분, 재관류시 LDH 유리는 10.7 u/g으로 모든 지표에서 우수한 보호작용을 나타내어, 혈관 이완작용에 대한 심장 선택성이 BMS-180448보다 훨씬 우수하다는 것을 알 수 있다. 또한 실시예 1의 화합물들은 LDH의 유리량을 현저하게 감소시켜 허혈-재관류에 의한 세포손상의 보호효과를 시사하였다. 이와 같이 본 발명의 화합물들은 허혈성 심혈관 질환에 대한 보호작용이 우수하고 혈관 확장 작용이 약하므로, 심근경색, 심부전증, 협심증의 예방 및 치료를 위한 심장보호제로서 사용될 수 있다.

317> <실험예 9> 흰쥐의 허혈심장 모델에 대한 심장 보호작용

- 318> 본 발명에 의한 화학식 1의 화합물이 허혈 심장을 보호하는 작용을 나타내는지 알아보기 위하여, 흰쥐에 대한 항허혈 효과 (Antiischemic effects)를 하기와 같은 실험을 통해 조사하였다.
- 319> 수컷 흰쥐 (350~450 g, 한국화학연구원 실험동물실)에 펜토바비탈 (pentobarbital)을 75 mg/kg로 복강주사하여 쥐를 마취시켰다. 기관절개술 (tracheotomy)을 실시한 후 10 ml/kg의 일회 심박출량 (stroke volume), 분당 60 심박수로 인공호흡을 실시하였다. 대퇴정맥과 대퇴동맥에 캐논리를 삽입하여 각각 약물 투여 및 혈압 측정에 이용하였다. 한편 허혈성 심근손상 모델에서 체온은 결과에 중요한 영향을 미치므로, 직장에 삽입한 체온 측정용 탐침 (probe)과 항온 피복 조절 유니트 (Homeothermic blanket control unit)를 사용하여 쥐의 체온을 37. °C로 일정하게 유지시켰다. 이후 실험기간 동안 쥐의 평균 동맥압 (mean arterial blood pressure) 과 심박동수 (HR)를 계속해서 측정하였다. 이때 혈압 측정에는 슈타탐 P23XL 압력 변환기 (Statham P23XL pressure transducer, Grass Ins., MA, 미국)를 사용하고 심박동수 측정에는 심전도/심박동수 카플러 (ECG/RATE Coupler, Hugo Sachs Electronic, 독일)를 사용하였다. 또한 그래프텍 리니어코더 차트 리코더 (Graphtec Linearcorder WR 3310, Hugo Sachs Electronic)를 사용하여 모든 변화를 연속적으로 기록하였다.
- 320> 좌관상 동맥은 셀리 (Selye H.)의 방법에 의해 하기와 같이 결찰시켰다. 즉, 좌개흉술 (left thoracotomy)에 의해 쥐의 가슴 일부를 열고 왼손의 장지 (長指)로 마취된 흰쥐의 오른쪽 가슴에 압력을 가하여 심장을 외부로 밀어내어 왼손의 엄지와 검지 손가락으로 심장을 가볍게 고정시켰다. 이후 수술사 (5-0 silk ligature)가 부착된 봉합용 (suture) 바늘로 조심스럽게 좌심실 하행성 관상동맥 (left anterior descending coronary artery, LAD)을 포함하는 부분을 뜯은 뒤 재빨리 심장을 흉곽강 (thoracic cavity)에 재위치시키고 수술사 양끝을 외부에 위치

시켰다. 수술사 양끝은 PE 튜브 (PE100, 2.5 cm)에 통과시킨 후 20분 동안 그대로 두어 안정화시켰다. 그 후 대퇴정맥에 삽입된 캐놀러를 통해 용매 (vehicle) 또는 약물을 투여하였으며, 약물의 효과가 충분히 나타나도록 30분간 그대로 두었다. 이 때, 대조군의 약물로는 BMS-180448을 사용하였고, 시험약물 및 대조약물은 0.3 mg/kg의 농도로 투여하였다.

321> 이후 실에 끼워 놓았던 PE 튜브를 심장에 밀어 넣고 튜브의 끝부분 실을 지혈 (hemostatic) 핀셋으로 당겨 PE 튜브를 관상동맥에 수직으로 밀착시켜 압력을 가하였으며, 45분 동안 그대로 두어 관상동맥을 결찰 (occlusion)시킨 뒤 지혈 핀셋을 제거하고 90분간 재관류시켰다.

322> 상기 방법에 의해 관상동맥을 재결찰 (reocclusion)시키고, 1% 에반스 블루 용액 (Evans blue) 2 ml를 정맥투여하였다. 이후 펜토바비탈을 과량 정맥 투여하여 흰쥐를 도살시키고 심장을 떼어내어 우심실과 양쪽 심방을 제거하였다. 좌심실은 심첨으로부터 5~6 개의 절편 (slice)으로 수평 절단하고, 절편 각각의 무게를 측정하였다. 심장 절편 각각의 표면은 콤팩트 미세 영상 측정장치 (compact micro vision system)인 하이-스코프 (Hi-scope)와 화상분석용 컴퓨터 프로그램 (Image pro plus)을 이용해 컴퓨터에 입력시키고, 이로부터 각 절편에서 푸른 색으로 착색된 정상혈류 조직의 면적과 착색되지 않은 영역의 면적을 측정하였다. 각 절편의 총면적에 대하여 착색되지 않은 영역의 면적비를 구하고 여기에 각 절편의 무게를 곱하여 각 절편의 위험영역인 AAR (area at risk)을 계산하였다. 이렇게 구한 각 절편에 대한 AAR를 모두 합하고 이것을 전체 좌심실 무게로 나누어, 하기 수학적 식 3에 의해 AAR (%)을 구하였다.

323> 【수학적 식 3】 $AAR (\%) = (\text{각 절편에 대한 AAR의 합}) / (\text{전체 좌심실 무게}) \times$

- 24> 또한, 심장 절편을 1% 2,3,5-트리페닐테트라졸륨 클로라이드 인산 완충 용액 (2,3,5-triphenyltetrazolium chloride (TTC) phosphate buffer, 37 °C, pH 7.4)에서 15분 동안 배양시키고 10% 포르말린 (formalin) 용액에서 20~24시간 동안 고정 시켰다. 이렇게 함으로써 심근의 탈수소효소 (dehydrogenase)와 보조인자 (cofactor)인 NADH에 의해 2,3,5-트리페닐테트라졸륨 클로라이드가 환원되어 포르마잔 염료 (formazan dye)가 되므로, 조직의 정상 부위는 붉은 벽돌색 (brick-red color)을 띠게 된다. 반면 조직의 경색 부위에는 탈수소효소와 보조인자가 없으므로 2,3,5-트리페닐테트라졸륨 클로라이드가 환원되지 않고, 따라서 붉은 벽돌색을 띠지 않게 된다.
- 325> 상기와 같이 2,3,5-트리페닐테트라졸륨 클로라이드에 의해 조직 부위가 착색되는지 여부에 의해 각 절편의 정상 영역 및 경색 영역 (Infarct zone)을 상기 AAR 측정시와 동일한 방법으로 구하였다. 이렇게 구한 각 절편에 대한 경색 영역을 모두 합하고 이것을 전체 AAR 무게 또는 전체 좌심실 무게로 나누어, 하기 수학적 식 2에 의해 IZ (%)를 구하였다. 이 실험 모델에 있어서는, IZ (%)가 낮을수록 시험물질의 항허혈 효과가 강한 것으로 판정하였다. 결과는 하기 표 11에 나타내었다.
- 326> 【수학적 식 4】 $IZ (\%) = (\text{각 절편에 대한 경색 영역의 합})$
- 327>
$$/(\text{전체 좌심실 또는 전체 AAR의 무게}) \times 100$$

328> 【표 11】

화학식 1의 화합물의 흰쥐의 허혈심장 모델에 대한 심장 보호작용

시험약물	항허혈 작용 (쥐를 이용한 생체내 실험)	
	AAR/LV	IZ/AAR
용매	39.8	60.8
BMS-180448	38.8	39.1
실시예 1	33.4	41.2

329> 상기 표 11에서 볼 수 있듯이, 마취된 흰쥐를 이용한 허혈심장 손상 모델에서도 본 발명의 화합물은 위험영역에 대한 심근경색율이 유의적으로 감소된 수치를 보였다. 구체적으로 용매 투여군은 위험영역 (AAR)에 대한 심근경색율 (IZ/AAR, %)이 60.8%로서 허혈에 의한 심장근 손상이 매우 심한 것을 알 수 있고, BMS-180448를 투여한 경우에는 심근경색율은 39.8%로서 대조물질인 가 유의성 있는 항허혈 작용을 나타냄을 알 수 있었다. 반면, 실시예 1의 화합물은 심근경색율은 41.2%로 BMS-180448과 비슷하였으나, BMS-180448 ($IC_{50} = 1.38 \mu M$)과 비교하여 혈관 이완작용이 약하여 ($IC_{50} = 9.38 \mu M$), 혈관 이완작용에 대한 심장 선택성이 BMS-180448 보다 훨씬 우수하다는 것을 알 수 있다. 또한 상기 실험에서 본 발명의 화합물은 혈압을 감소시키는 작용을 하지도 않았다. 이와 같이 본 발명의 화합물은 허혈성 심혈관 질환에 대한 보호 작용이 우수하므로, 심근전색, 심부전증, 협심증의 예방 및 치료를 위한 심장보호제로서 사용될 수 있다.

330> <실험예 10> 랫트에 대한 경구투여 급성 독성실험

331> 한편, 화학식 1의 화합물의 급성 독성을 알아보기 위하여 하기와 같은 실험을 수행하였다.

- 332> 6주령의 특정병원부재(SPF) SD계 랫트를 사용하여 급성독성실험을 실시하였다. 군당 2 마리씩의 동물에 실시예 1~26으로부터 얻어진 화합물을 각각 0.5 % 메틸셀룰로오스 용액에 현탁하여 100 mg/kg/15ml의 용량으로 단회 경구 투여하였다.
- 333> 시험물질 투여 후 동물의 폐사 여부, 임상증상 및 체중변화 등을 관찰하고 혈액학적 검사와 혈액생화학적 검사를 실시하였으며 부검하여 육안으로 복강장기와 흉강장기의 이상여부를 관찰하였다.
- 334> 시험 결과, 시험물질을 투여한 모든 동물에서 특기할 만한 임상증상은 없었고 폐사된 동물도 없었으며, 또한 체중변화, 혈액검사, 혈액생화학 검사, 부검소견 등에서도 독성변화는 관찰되지 않았다. 이상의 결과 실험된 화합물은 모두 랫트에서 100 mg/kg까지 독성변화를 나타내지 않으며 경구 투여 최소치사량 (LD₅₀)은 1000 mg/kg 이상인 안전한 물질로 판단되었다.
- 335> 한편, 본 발명에 따른 상기 화합물은 목적에 따라 여러 형태로 제제화가 가능하다. 하기는 본 발명에 따른 상기 화합물을 활성성분으로 함유시킨 몇몇 제제화 방법을 예시한 것으로 본 발명이 이에 한정되는 것은 아니다.
- 336> <제제예 1> 정제(직접 가압)
- 337> 활성성분 5.0 mg을 체로 친 후, 락토스 14.1 mg, 크로스포비돈 USNF 0.8 mg 및 마그네슘 스테아레이트 0.1 mg을 혼합하고 가압하여 정제로 제조하였다.

338> <제제예 2> 정제(습식 조립)

339> 활성성분 5.0 mg을 체로 친 후, 락토스 16.0 mg과 녹말 4.0 mg을 섞었다. 폴리솔베이트 80 0.3 mg을 순수한 물에 녹인 후 이 용액의 적당량을 첨가한 다음, 미립화하였다. 건조 후에 미립을 체질한 후 콜로이달 실리콘 디옥사이드 2.7 mg 및 마그네슘 스테아레이트 2.0 mg과 섞었다. 미립을 가압하여 정제로 제조하였다.

340> <제제예 3> 분말과 캡슐제

341> 활성성분 5.0 mg을 체로 친 후에, 락토스 14.8 mg, 폴리비닐 피롤리돈 10.0 mg, 마그네슘 스테아레이트 0.2 mg와 함께 혼합하였다. 상기 혼합물을 적당한 장치를 사용하여 단단한 No. 5 젤라틴 캡슐에 채웠다.

342> <제제예 4> 주사제

343> 활성성분으로서 100 mg을 함유시키고, 그 밖에도 만니톨 180 mg, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 26 mg 및 증류수 2974 mg를 함유시켜 주사제를 제조하였다.

【발명의 효과】

344> 상기에서 살펴본 바와 같이, 본 발명에 의한 화학식 1의 화합물들은 신생혈관의 형성을 억제하며 종양억제 효과를 나타내었고, 혈관 이완작용이 약하여 혈압을 감소시키지 않으면서도 허혈심장에 대한 보호작용을 나타내며, 산화적 스트레스에 의한 신경세포 손상을 방지하며 지질 과산화를 억제하는 등 매우 다양하고 폭넓은 약리작용을 나타낸다. 따라서 본 발명에 의한

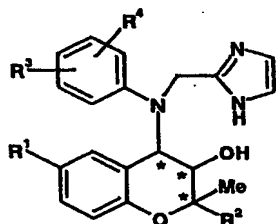
상기 화학식 1로 표시되는 이미다졸을 포함하는 이차아민으로 치환된 벤조피란 유도체 및 약학적으로 허용되는 그의 염을 유효성분으로 함유하는 약학적 조성물은 암, 당뇨병 망막증, 류마티스성 관절염의 예방 및 치료를 위한 신생혈관 형성 억제제, 신생아 저산소증, 녹내장, 당뇨병 신경증 및 뇌외상의 치료 및 예방을 위한 신경세포 보호제, 노화, 치매와 같은 퇴행성 신경 질환 및 동맥경화의 예방 및 치료를 위한 항산화제, 심장마비 (심근경색), 심부전증 및 협심증의 예방 및 치료를 위한 심장보호제 등 산화적 스트레스, 또는 허혈-재관류와 관련된 조직의 보호제 및 질환의 치료제로 사용될 수 있다.

【특허청구범위】

【청구항 1】

하기 화학식 1로 표시되는 이미다졸을 포함하는 이차아민으로 치환된 벤조피란 유도체,
그의 부분 입체이성질체 및 약학적으로 허용되는 그의 염.

화학식 1



(상기식에서,

R^1 은 H, CN, NO_2 또는 NH_2 이며,

R^2 는 CH_3 , $\begin{array}{c} \text{OR}^a \\ | \\ \text{CH} \\ | \\ \text{OR}^a \end{array}$ 또는 $\begin{array}{c} \text{O} \\ \diagup \quad \diagdown \\ \text{CH} \quad \text{Z} \\ \diagdown \quad \diagup \\ \text{O} \end{array}$ 이며,

이때, R^a 는 $\text{C}_1\sim\text{C}_4$ 의 직쇄 또는 측쇄 알킬이고,

Z 는 $\text{C}_2\sim\text{C}_6$ 의 직쇄 또는 측쇄 일킬이고;

R^3 및 R^4 는 각각 독립적으로 H, Cl, Br, F, $\text{C}_1\sim\text{C}_3$ 의 직쇄 또는 측쇄 알킬, OR^b , CF_3 , OCF_3 , NO_2 또는 CO_2R^b 이며,

이때, R^b 는 H 또는 $\text{C}_1\sim\text{C}_3$ 의 알킬이고,

*는 카이랄(chiral) 탄소를 나타낸다.)

【청구항 2】

제 1항에 있어서, 상기 화학식 1의 화합물이

- 1)(2S,3S,4R)-6- 니트로-4-[N-(4-클로로페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)아미노]-3-하이드록시-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란
- 2)(2S,3R,4S)-6-니트로-4-[N-(4-클로로페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)아미노]-3-하이드록시-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란
- 3)(2R,3R,4S)-6- 니트로-4-[N-(4-클로로페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)아미노]-3-하이드록시-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란
- 4)(2R,3S,4R)-6-니트로-4-[N-(4-클로로페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)아미노]-3-하이드록시-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란
- 5)(2S,3S,4R)-6- 니트로-4-[N-(4-트라이플루오로메틸페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)아미노]-3-하이드록시-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란
- 6)(2S,3S,4R)-6-니트로-4-[N-(4-메톡시페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)아미노]-3-하이드록시-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란
- 7)(2S,3S,4R)-6- 니트로-4-[N-(4-트라이플루오로메톡시페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)아미노]-3-하이드록시-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란
- 8)(2S,3S,4R)-6-니트로-4-[N-(4-브로모페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)아미노]-3-하이드록시-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란
- 9)(2S,3S,4R)-6- 니트로-4-[N-(2,4-다이에틸페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)아미노]-3-하이드록시-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란

10)(2S,3S,4R)-6-니트로-4-[N-(2-아이소프로필페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)아미노]-3-하이드록시-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란

11)(2S,3S,4R)-6-니트로-4-[N-(2,3-다이에틸페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)아미노]-3-하이드록시-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란

12)(2R,3R,4S)-6-니트로-4-[N-(2,3-다이에틸페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)아미노]-3-하이드록시-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란

13)(2R,3R,4S)-6-니트로-4-[N-(4-브로모페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)아미노]-3-하이드록시-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란

14)(2R,3R,4S)-6-니트로-4-[N-(4-메톡시페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)아미노]-3-하이드록시-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란

15)(2S,3S,4R)-6-니트로-4-[N-(4-플루오로페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)아미노]-3-하이드록시-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란

16)(2S,3S,4R)-6-니트로-4-[N-(2-메톡시페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)아미노]-3-하이드록시-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란

17)(2R,3R,4S)-6-니트로-4-[N-(2-아이소프로필페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)아미노]-3-하이드록시-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란

18)(2R,3R,4S)-6-니트로-4-[N-(2-메톡시페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)아미노]-3-하이드록시-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란

19)(2R,3R,4S)-6- 니트로-4-[N-(3-클로로페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)아미노]-3-하이드록시-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란

20)(2S,3S,4R)-6-니트로-4-[N-(3-클로로페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)아미노]-3-하이드록시-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란

21)(2R,3R,4S)-6- 니트로-4-[N-(4-트라이플루오로메톡시페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)아미노]-3-하이드록시-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란

22)(2S,3S,4R)-6-사이아노-4-[N-(4-클로로페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)아미노]-3-하이드록시-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란

23)(2R,3R,4S)-6- 아미노-4-[N-(4-클로로페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)아미노]-3-하이드록시-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란

24)(2S,3S,4R)-6-아미노-4-[N-(4-클로로페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)아미노]-3-하이드록시-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란

25)(2S,3S,4R)-6- 아미노-4-[N-(4-트라이플루오로메틸페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)아미노]-3-하이드록시-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란

26)(2R,3R,4S)-6-아미노-4-[N-(4-트라이플루오로메톡시페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)아미노]-3-하이드록시-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란

27)(2R,3R,4S)-6- 아미노-4-[N-(2,3-다이에틸페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)아미노]-3-하이드록시-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란

28)(2R,3R,4S)-6-아미노-4-[N-(4-메톡시페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)아미노]-3-하이드록시-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란

29)(2R,3R,4S)-6- 아미노-4-[N-(4-브로모페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)아미노]-3-하이드록시-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란

30)(2S,3S,4R)-6-아미노-4-[N-(2,3-다이에틸페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)아미노]-3-하이드록시-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란

31)(2S,3S,4R)-6- 아미노-4-[N-(2-메톡시페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)아미노]-3-하이드록시-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란

32)(2S,3S,4R)-6-아미노-4-[N-(4-메톡시페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)아미노]-3-하이드록시-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란

33)(2S,3S,4R)-6- 아미노-4-[N-(2,4-다이에틸페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)아미노]-3-하이드록시-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란

34)(2S,3S,4R)-6-아미노-4-[N-(2-아이소프로필페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)아미노]-3-하이드록시-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란

35)(2S,3S,4R)-6- 아미노-4-[N-(4-트라이플루오로메톡시페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)아미노]-3-하이드록시-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란

36)(2S,3S,4R)-6-아미노-4-[N-(4-브로모페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)아미노]-3-하이드록시-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란

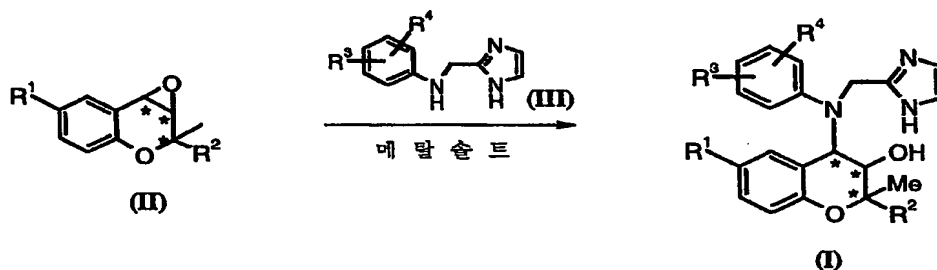
37)(2S,3S,4R)-6-아미노-4-[N-(4-플루오로페닐)-N-(1H-이미다졸-2-일메틸)아미노]-3-하이드록시-2-메틸-2-다이에톡시메틸-3,4-다이하이드로-2H-1-벤조피란인 것을 특징으로 하는 이

미다졸을 포함하는 이차아민으로 치환된 벤조피란 유도체, 그의 부분 입체이성질체 및 약학적으로 허용되는 그의 염.

【청구항 3】

하기 반응식 1과 같이 에폭사이드 화합물 (II)와 이미다졸을 포함하는 이차아민 화합물 (III)을 메탈솔트 및 반응용매 존재 하에 반응시켜 화합물 (I)를 얻는 것을 특징으로 하는 벤조피란 유도체의 제조방법.

반응식 1



(상기 식에서, R¹, R², R³, R⁴ 및 *는 상기 청구항 1에서 정의한 바와 같다.)

【청구항 4】

제 3항에 있어서, 상기 메탈솔트가 Mg(ClO₄)₂, CoCl₂, LiClO₄, NaClO₄, CaCl₂, ZnCl₂, LiBF₄ 및 Zn(Tf)₂를 포함하는 그룹에서 선택되는 것을 특징으로 하는 벤조피란 유도체의 제조방법.

【청구항 5】

제 3항에 있어서, 상기 반응용매가 아세토니트릴, 테트라하이드로퓨란 및 디메틸포름아미드를 포함하는 그룹에서 선택되는 것을 특징으로 하는 벤조피란 유도체의 제조방법.

【청구항 6】

하기 반응식 4와 같이, 화학식 (IV)의 화합물을 반응용매 존재하에 백금, 팔라듐 부착 목탄(Pd/C) 또는 라니-니켈을 이용하여 환원반응시켜 화학식 (V)의 화합물을 제조하거나,

화학식 (IV)의 화합물을 $\text{Cu}(\text{SO}_4)$, $\text{Cu}(\text{OAc})_2$, CoCl_2 , SnCl_2 또는 NiCl_2 존재하에 환원제와 반응시켜 화학식 (V)의 화합물을 제조하는 것을 특징으로 하는 벤조피란 유도체의 제조방법.

반응식 4



(상기 식에서, R^2 , R^3 , R^4 및 $*$ 는 상기 청구항 1에서 정의한 바와 같다.)

【청구항 7】

제 6항에 있어서, 상기 환원제가 NaBH_4 인 것을 특징으로 하는 벤조피란 유도체의 제조방법.

【청구항 8】

제 1항의 이미다졸을 포함하는 이차아민으로 치환된 벤조피란 유도체 및 약학적으로 허용되는 그의 염을 유효성분으로 함유하는, 암, 당뇨병 망막증 및 류마티스성 관절염의 예방 및 치료를 위한 신생혈관 생성 억제제용 약학적 조성물.

【청구항 9】

제 1항의 이미다졸을 포함하는 이차아민으로 치환된 벤조피란 유도체 및 약학적으로 허용되는 그의 염을 유효성분으로 함유하는, 신생아 저산소증, 녹내장, 당뇨병 신경증, 뇌외상의 예방 및 치료를 위한 신경세포 보호제용 약학적 조성물.

【청구항 10】

제 1항의 이미다졸을 포함하는 이차아민으로 치환된 벤조피란 유도체 및 약학적으로 허용되는 그의 염을 유효성분으로 함유하는, 노화, 치매와 같은 퇴행성 신경질환 및 동맥경화의 예방 및 치료를 위한 항산화제용 약학적 조성물.

【청구항 11】

제 1항의 이미다졸을 포함하는 이차아민으로 치환된 벤조피란 유도체 및 약학적으로 허용되는 그의 염을 유효성분으로 함유하는, 심근경색 (심장마비), 심부전증, 협심증의 예방 및 치료를 위한 심장 보호용 약학적 조성물.

【서지사항】

【서류명】	명세서 등 보정서
【수신처】	특허청장
【제출일자】	2003.07.01
【제출인】	
【명칭】	한국화학연구원
【출원인코드】	3-1998-007765-1
【사건과의 관계】	출원인
【대리인】	
【성명】	이원희
【대리인코드】	9-1998-000385-9
【포괄위임등록번호】	1999-011676-9
【사건의 표시】	
【출원번호】	10-2002-0047189
【출원일자】	2002.08.09
【심사청구일자】	2002.08.09
【발명의 명칭】	이미다졸을 포함하는 이차아민으로 치환된 벤조피란 유도체 및 그의 제조방법
【제출원인】	
【접수번호】	1-1-2002-0258131-62
【접수일자】	2002.08.09
【보정할 서류】	명세서등
【보정할 사항】	
【보정대상항목】	별지와 같음
【보정방법】	별지와 같음
【보정내용】	별지와 같음
【취지】	특허법시행규칙 제13조·실용신안법시행규칙 제8조의 규정에 의하여 위와 같 이 제출합니다. 대리인 이원희 (인)

020047189

출력 일자: 2003/8/8

【수수료】

【보정료】 0 원

【추가심사청구료】 0 원

【기타 수수료】 0 원

【합계】 0 원

【보정대상항목】 식별번호 5

【보정방법】 정정

【보정내용】

암종양이 생성되고 신생혈관 형성을 유도한 후 최종적으로 전이가 되는 과정에서 신생혈관 형성 억제제 개발의 표적으로는 신생혈관 형성 유도인자의 생산을 억제, 신생혈관 형성 유도 인자가 수용체에 결합하는 것을 저해, 기저막이 가수분해되는 것을 저해, 내피세포의 이동을 저해, 내피세포의 증식을 저해, 모세관의 형성을 저해, 기저막의 합성을 저해 또는 전이를 억제하는 것이다. 이러한 관점에서 그동안 발견 및 개발된 신생혈관 형성 억제제는 프로스타민 (prostamine), 종양괴사인자 (tumor necrosis factor)와 같은 단백질들, 폴리사카라이드류, 항생제류, 스테로이드류, 폴리양이온 및 폴리음이온류, 암억제 유전자류 등으로 분류될 수 있다. 지혈성 스테로이드 (angiostatic steroids)인 하이드로코르티손 (hydrocortisone)의 경우는 헤파린 (heparin)과 함께 처리할 때 혈관형성 억제효과를 나타내는 것으로 알려져 있다[*Lee, A. et al.*, (1983) *Science* 221: 1185-1187; *Crum, R. et al.*, (1985) *Science* 230: 1375-1378]. 현재 임상실험에 들어가 있는 약물은 다수 있으며, Marimastat, BAY 1-9566, Prinomastat, Neovastat, SU 5416이 phase III에 있고 Neovastat와 SU 5416는 긍정적인 임상결과가 발표되었다.

【보정대상항목】 식별번호 7

【보정방법】 정정

【보정내용】

한편 아트왈 등에 의해 하기 구조식을 갖는 벤조피라닐 아닐리노 메틸 이미다졸 (BMS-191095)이 기존의 칼륨통로 개방제와는 달리 심장에 존재하는 K_{ATP} (ATP-sensitive potassium channel)에 선택적으로 작용하는 것이 보고된 바 있다 [K.S. Atwal *et al.*, *J. Med. Chem.*]. 이 화합물은 혈관을 이완시키는 효과가 비교적 작아서 혈압을 감소시키지 않으면서도 허혈 심장을 보호하므로, 새로운 허혈심장질환 치료제로서의 개발 가능성을 제시하였다.

【보정대상항목】 식별번호 8

【보정방법】 정정

【보정내용】

